

Aus dem Pathologischen Institut  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Professor Dr. T. Kirchner

**Expression von Steroidrezeptoren und anderen  
Hormonrezeptoren in Ovarialkarzinomen –  
Umfassende Korrelationsanalyse zu klinischen  
Parametern**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von Maike Breidenbach

aus Bergisch Gladbach

2018

Mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Doris Mayr

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Beyhan Ataseven  
Prof. Dr. med. Sven Mahner

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:  
Dr. med. Elisa Schmoeckel

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 17.05.2018

**Meiner Familie**

## **Inhaltsverzeichnis**

<b><u>Inhaltsverzeichnis</u></b> .....	<b>I</b>
<b><u>Abkürzungsverzeichnis</u></b> .....	<b>III</b>
<b><u>Abbildungsverzeichnis</u></b> .....	<b>V</b>
<b><u>Tabellenverzeichnis</u></b> .....	<b>VI</b>
<b>1 <u>Einleitung</u></b> .....	<b>1</b>
1.1 <b><u>Vorwort</u></b> .....	<b>1</b>
1.2 <b><u>Ovarialtumoren</u></b> .....	<b>1</b>
1.2.1 Klassifikation .....	1
1.2.2 Epidemiologie .....	2
1.2.3 Histologie .....	4
1.2.4 Ätiologie und Pathogenese .....	7
1.2.5 Risikofaktoren .....	11
1.2.6 Grading .....	12
1.2.7 Typischer Krankheitsverlauf und Staging .....	14
1.2.8 Klinik .....	17
1.2.8.1 Symptome .....	17
1.2.8.2 Diagnostik .....	17
1.2.8.3 Therapie .....	19
1.2.8.4 Prognosefaktoren .....	27
1.3 <b><u>Rezeptoren</u></b> .....	<b>28</b>
1.3.1 Rezeptorexpression bei Malignomen .....	28
1.3.2 Östrogenrezeptoren: ER und GPER .....	28
1.3.3 Progesteron-Rezeptor .....	30
1.3.4 Follikelstimulierender-Hormon-Rezeptor und Luteinisierender-Hormon-Rezeptor .....	31
1.3.5 Human epidermal growth factor receptor 2 .....	32
1.3.6 Galektin-7 .....	33
<b>2 <u>Zielsetzung der Dissertation</u></b> .....	<b>35</b>
<b>3 <u>Material und Methoden</u></b> .....	<b>36</b>
3.1 <b><u>Patientenkollektiv</u></b> .....	<b>36</b>
3.2 <b><u>Material</u></b> .....	<b>41</b>
3.2.1 Untersuchungsmaterial .....	41
3.2.2 Geräte, Materialien und Chemikalien .....	42
3.2.2.1 Geräte .....	42
3.2.2.2 Verbrauchsmaterialien .....	43
3.2.2.3 Chemikalien .....	43
3.2.2.4 Antikörper .....	43
3.2.2.5 Detektionssysteme .....	44
3.3 <b><u>Immunhistochemie</u></b> .....	<b>44</b>
3.3.1 Allgemeine Prinzipien der Immunhistochemie .....	44
3.3.2 Durchführung .....	45
3.3.3 ABC-Methode .....	46
3.3.4 HRP Polymer-Methode .....	48
3.3.5 Primärantikörper .....	48
3.4 <b><u>Mikroskopische Auswertung der immunhistochemischen Färbungen</u></b> .....	<b>49</b>
3.5 <b><u>Statistische Auswertung</u></b> .....	<b>51</b>
<b>4 <u>Ergebnisse</u></b> .....	<b>52</b>
4.1 <b><u>Deskriptive Statistik</u></b> .....	<b>52</b>
4.1.1 Histologische Subtypen .....	52

4.1.2	ER $\alpha$ .....	53
4.1.3	PR.....	54
4.1.4	Her2/neu .....	55
4.1.5	GPER.....	56
4.1.6	Gal-7 .....	57
4.1.7	FSHR.....	58
4.1.8	LHR.....	59
4.1.9	Korrelation zwischen Rezeptoren.....	60
4.1.10	Rezeptorexpression des Primärtumors und seines Rezidivs .....	62
<b>4.2</b>	<b><u>Überlebensanalysen</u></b> .....	<b>63</b>
4.2.1	Überleben des Gesamtkollektivs .....	63
4.2.2	Faktor FIGO-Stadium im relativen Überleben.....	64
4.2.3	Faktor Grading im relativen Überleben.....	65
4.2.4	Faktor histologische Subtypen im relativen Überleben.....	66
4.2.5	Faktor Rezeptorexpression im relativen Überleben.....	67
4.2.5.1	ER $\alpha$ .....	67
4.2.5.2	PR.....	67
4.2.5.3	Her2/neu .....	69
4.2.5.4	GPER.....	70
4.2.5.5	Gal-7 .....	71
4.2.5.6	FSHR .....	72
4.2.5.7	LHR.....	73
4.2.6	Relatives Überleben und Rezeptorkombinationen .....	74
4.2.6.1	ER $\alpha$ – GPER .....	75
4.2.6.2	ER $\alpha$ – Gal-7 .....	75
4.2.6.3	PR – GPER.....	77
4.2.6.4	PR – Gal-7 .....	79
4.2.6.5	FSHR – GPER.....	81
4.2.6.6	FSHR – Gal-7.....	82
4.2.6.7	LHR – GPER.....	84
4.2.6.8	LHR – Gal-7 .....	85
<b>5</b>	<b><u>Diskussion</u></b> .....	<b>86</b>
5.1	<b><u>Einführung</u></b> .....	<b>86</b>
5.2	<b><u>Diskussion der Methoden</u></b> .....	<b>87</b>
5.2.1	Immunhistochemische Untersuchung an TMAs .....	87
5.2.2	Patientenkollektiv .....	88
5.3	<b><u>Diskussion der Ergebnisse</u></b> .....	<b>89</b>
5.3.1	Allgemeine Prognosefaktoren .....	89
5.3.2	ER $\alpha$ und GPER.....	91
5.3.3	PR.....	95
5.3.4	FSHR und LHR .....	97
5.3.5	Her2/neu .....	100
5.3.6	Gal-7 .....	101
5.3.7	Rezeptorkombinationen.....	104
5.3.8	Veränderung der Rezeptorexpression zwischen Primärtumor und Rezidiv.....	107
<b>6</b>	<b><u>Zusammenfassung</u></b> .....	<b>108</b>
<b>7</b>	<b><u>Literaturverzeichnis</u></b> .....	<b>111</b>
<b>8</b>	<b><u>Danksagung</u></b> .....	<b>128</b>
<b>9</b>	<b><u>Eidesstattliche Versicherung</u></b> .....	<b>129</b>

## **Abkürzungsverzeichnis**

Aa.	Arteriae
Abk.	Abkürzung
AHT	Antihormontherapie
AI	Aromataseinhibitor
AK	Antikörper
Aqua dest.	destilliertes Wasser
BRCA	Breast Cancer
bzw.	beziehungsweise
CA 125	Cancer-Antigen 125
ca.	circa
CAR	chimeric antigen receptor
CER	chimeric endocrine receptor
CIC	cortical inclusion cyst (Inklusionszyste)
CTx	Chemotherapie
DNS	Desoxyribonuklein-Säure
EGFR	epidermal growth factor receptor
ER	Östrogenrezeptor
ERK	Extracellular-signal Regulated Kinases
ERR	Estrogen-related receptor
etc.	et cetera
evtl.	eventuell
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
FSHR	Follikelstimulierender-Hormon-Rezeptor
Gal-7	Galektin-7
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
GOG	Gynecologic Oncology Group
GPCR	G protein-coupled receptor
GPOR	G protein-coupled estrogen receptor
HE	Hämatoxylin-Eosin
HE4	human epididymis protein 4
HET	Hormonersatztherapie
HGSC	high-grade serous carcinoma (seröses high-grade Karzinom)
HIPEC	hypertherme intraperitoneale Chemotherapie

<b>HNPCC</b>	hereditäres nichtpolypöses kolorektales Karzinom (= Lynch-Syndrom)
<b>HPF</b>	high power field
<b>IHC</b>	Immunhistochemie
<b>IRS</b>	Immunreaktiver Score
<b>LGSC</b>	low-grade serous carcinoma (seröses low-grade Karzinom)
<b>LH</b>	Luteinisierendes Hormon
<b>LHR</b>	Luteinisierender-Hormon-Rezeptor
<b>NACT</b>	neoadjuvante Chemotherapie
<b>NF-κB</b>	nuclear factor „kappa-light-chain-enhancer“ of activated B-cells
<b>o.n.A.</b>	ohne nähere Angabe
<b>OSE</b>	Ovarian Surface Epithelium (Oberflächenepithel)
<b>PARP</b>	Poly-ADP-ribose-Polymerase
<b>PBS</b>	Phosphatgepufferte Salzlösung
<b>PCOS</b>	Polyzystisches Ovar-Syndrom
<b>PCR</b>	Polymerase-Ketten-Reaktion
<b>PFS</b>	progression-free survival (progressionsfreies Überleben)
<b>PI3K</b>	Phosphoinositid-3-Kinase
<b>PKC</b>	Proteinkinase C
<b>PR</b>	Progesteronrezeptor
<b>RKI</b>	Robert-Koch-Institut
<b>SBT</b>	Seröser Borderline-Tumor
<b>SERM</b>	Selektiver Estrogenrezeptormodulator
<b>STIC</b>	serous tubal intraepithelial carcinomas (seröse tubare intraepitheliale Karzinome)
<b>SV40</b>	Simian-Virus 40
<b>TMA</b>	Tissue Microarray
<b>TVS</b>	transvaginale Sonographie
<b>UICC</b>	Union internationale contre le cancer
<b>VEGF</b>	Vascular Epithelial Growth Factor
<b>WHO</b>	World Health Organization

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1 Mortalität des Ovarialkarzinoms: Verzernte Weltkarte.....	3
Abbildung 2 Die häufigsten histologischen Subtypen des Ovarialkarzinoms.....	6
Abbildung 3 Pathogenese der Ovarialkarzinome.....	10
Abbildung 4 Altersverteilung des Patientenkollektivs zum Zeitpunkt der Diagnosestellung.....	36
Abbildung 5 Prozentuale Verteilung der Grading-Stufen.....	37
Abbildung 6 Prozentuale Verteilung der FIGO-Stadien.....	38
Abbildung 7 Prozentuale Verteilung des Follow-Up-Status.....	39
Abbildung 8 Prozentuale Verteilung der Todesursachen.....	40
Abbildung 9 Überlebenszeiten ab Diagnosestellung.....	41
Abbildung 10 Ausschnitt eines immunhistochemisch gefärbten TMAs.....	42
Abbildung 11 Indirekte ABC-Methode.....	47
Abbildung 12 Fotos – links ER $\alpha$ -negativ, rechts stark ER $\alpha$ -positiv.....	53
Abbildung 13 Fotos – links PR-negativ, rechts stark PR-positiv.....	54
Abbildung 14 Fotos – links Her2/neu-negativ, rechts Her2/neu-positiv.....	55
Abbildung 15 Fotos – links GPER-negativ, rechts stark GPER-positiv.....	56
Abbildung 16 Fotos – links Gal-7-negativ, rechts mäßig Gal-7-positiv.....	57
Abbildung 17 Fotos – links FSHR-negativ, rechts stark FSHR-positiv.....	58
Abbildung 18 Fotos – links LHR-negativ, rechts stark LHR-positiv.....	59
Abbildung 19 Gesamtes, relatives und erwartetes Überleben des Gesamtkollektivs.....	63
Abbildung 20 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FIGO-Stadium.....	64
Abbildung 21 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach Grading.....	65
Abbildung 22 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach histologischem Subtyp.....	67
Abbildung 23 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach PR-Expression.....	68
Abbildung 24 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach GPER-Expression.....	70
Abbildung 25 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FSHR-Expression.....	73
Abbildung 26 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach LHR-Expression.....	74
Abbildung 27 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach ER $\alpha$ /Gal-7-Expression.....	76
Abbildung 28 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach PR/GPER-Expression.....	78
Abbildung 29 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach PR/Gal-7-Expression.....	80
Abbildung 30 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FSHR/GPER-Expression.....	82
Abbildung 31 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FSHR/Gal-7-Expression.....	83
Abbildung 32 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach LHR/GPER-Expression.....	84



## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1 Histologische Subtypen nach Aufteilung in Typ-I- und Typ-II-Tumoren .....	7
Tabelle 2 Gradingssystem nach Silverberg .....	12
Tabelle 3 Grading-Score nach Silverberg.....	13
Tabelle 4 MDACC-Grading-System.....	13
Tabelle 5 Stadieneinteilung nach FIGO und TNM.....	16
Tabelle 6 Stadienadaptierte CTx.....	20
Tabelle 7 Empfehlungen der aktuellen S3-Leitlinie zum Einsatz von Bevacizumab.....	23
Tabelle 8 Tabellarische Aufschlüsselung der absoluten und relativen Verteilung der histologischen Subtypen .....	38
Tabelle 9 Tabellarische Aufschlüsselung der absoluten und relativen Verteilung der histologischen Subtypen nach Einteilung in die im Weiteren verwendeten vier Gruppen .....	39
Tabelle 10 Kriterien des Immunreaktiven Scores/Hormonrezeptorscores nach Remmele und Stegner .....	49
Tabelle 11 Interpretation des errechneten IRS.....	50
Tabelle 13 Kreuztabelle zwischen Grading und histologischen Subtypen .....	52
Tabelle 14 Kreuztabelle zwischen FIGO-Stadium und histologischen Subtypen .....	52
Tabelle 15 ER $\alpha$ -Expression des Patientenkollektivs.....	53
Tabelle 16 PR-Expression des Patientenkollektivs.....	54
Tabelle 17 Her2/neu-Expression des Patientenkollektivs.....	55
Tabelle 18 Kreuztabelle zwischen histologischen Subtypen und Her2/neu-Expression.....	56
Tabelle 19 GPER-Expression des Patientenkollektivs .....	56
Tabelle 20 Gal-7-Expression des Patientenkollektivs .....	57
Tabelle 21 FSHR-Expression des Patientenkollektivs.....	58
Tabelle 22 LHR-Expression des Patientenkollektivs.....	59
Tabelle 23 Rangkorrelation nach Spearman zwischen den sieben Rezeptoren.....	61
Tabelle 24 Rezeptorexpression unter Verwendung des IRS von Primärtumor und Rezidiv .....	62
Tabelle 25 Relative Überlebensraten des Gesamtkollektivs.....	63
Tabelle 26 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach FIGO-Stadium.....	64
Tabelle 27 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach Grading .....	65
Tabelle 28 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach histologischem Subtyp.....	66
Tabelle 29 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach PR-Expression.....	68
Tabelle 30 Follow-Up und Tumorklassifikation der Her2/neu-positiven Patientinnen .....	69
Tabelle 31 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach GPER-Expression .....	70
Tabelle 32 Vergleich der beiden GPER-Gruppen negativ/stark positiv und schwach/mäßig positiv hinsichtlich ihrer Expression der anderen sechs Rezeptoren mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests.....	71
Tabelle 33 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach FSHR-Expression.....	72
Tabelle 34 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach ER $\alpha$ /Gal-7-Expression.....	75
Tabelle 35 Cox-Regressionsanalyse der ER $\alpha$ /Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen ER $\alpha$ /Gal-7-Referenzgruppe.....	77
Tabelle 36 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach PR/GPER-Expression.....	78
Tabelle 37 Cox-Regressionsanalyse der PR/GPER-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen PR/GPER-Referenzgruppe.....	79
Tabelle 38 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach PR/Gal-7-Expression.....	79
Tabelle 39 Cox-Regressionsanalyse der PR/Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen PR/Gal-7-Referenzgruppe.....	80
Tabelle 40 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach FSHR/GPER-Expression .....	81

<i>Tabelle 41 Cox-Regressionsanalyse der FSHR/GPER-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen FSHR/GPER-Referenzgruppe .....</i>	<i>81</i>
<i>Tabelle 42 Cox-Regressionsanalyse der FSHR/Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen FSHR/Gal-7-Referenzgruppe .....</i>	<i>83</i>
<i>Tabelle 43 Cox-Regressionsanalyse der LHR/GPER-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen LHR/GPER-Referenzgruppe.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabelle 44 Cox-Regressionsanalyse der LHR/Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen LHR/Gal-7-Referenzgruppe.....</i>	<i>85</i>

# **1 Einleitung**

## **1.1 Vorwort**

Die Diagnose eines Ovarialkarzinoms ist für die betroffenen Frauen bis heute eine folgenschwere Nachricht, da sie mit einer hohen Letalität und nur wenigen Therapieoptionen verbunden ist. Zielgerichtete, personalisierte Therapien, die das Überleben der Patientinnen in zufriedenstellenden Maßen verlängern, konnten bisher nur bedingt etabliert werden. Stattdessen werden die meisten Patientinnen nach demselben Therapiekonzept behandelt, ohne auf mögliche Unterschiede im Verhalten und in der Morphologie der Tumoren Rücksicht zu nehmen. Aus diesem Grund beschäftigt sich die vorliegende Dissertation mit der Frage, ob es Unterschiede in der Rezeptorexpression von Ovarialkarzinomen gibt und, wenn ja, ob diese Unterschiede einen relevanten Einfluss auf das Überleben der Patientinnen haben. Aus den Ergebnissen könnten in Zukunft neue, zielgerichtete Therapieoptionen abgeleitet werden.

Im Folgenden werden zunächst die epidemiologischen, ätiologischen und klinischen Charakteristika des Ovarialkarzinoms beschrieben. Anschließend wird der Fokus auf die untersuchten Rezeptoren und ihre Bedeutung für das Ovarialkarzinom gelegt und die konkreten Fragestellungen dieser Dissertation erläutert.

## **1.2 Ovarialtumoren**

### **1.2.1 Klassifikation**

Es handelt sich um eine heterogene Gruppe von Neoplasien, die entsprechend der physiologischen Gewebsdifferenzierung des Ovars in drei Hauptgruppen unterteilt werden:

- 1) Epitheliale Tumoren (60-70%)
- 2) Keimstrang-Stroma-Tumoren (5-10%)
- 3) Keimzelltumoren (10-20%)

Alle drei Gruppen beinhalten benigne und maligne Tumorentitäten. Maligne epitheliale Tumoren entsprechen Ovarialkarzinomen, die ausschließlicher Gegenstand der Dissertation sind [1].

### 1.2.2 Epidemiologie

Das Ovarialkarzinom (ICD-10-Code C56<sup>a</sup>) stellte laut Robert-Koch-Institut (Abk. RKI) im Jahr 2014 mit 7.250 Neuerkrankungen in Deutschland die achthäufigste Krebsneuerkrankung bei Frauen dar. Es ist der dritthäufigste gynäkologische maligne Tumor, häufiger waren nur Mamma- sowie Endometriumkarzinome [2].

International gibt es große Unterschiede in der Erkrankungs- und der Sterberate (Inzidenz und Mortalität). Die Industriestaaten sind wesentlich häufiger betroffen als Entwicklungsländer. So trat das Ovarialkarzinom in gut entwickelten Gebieten im Jahr 2012 mit einer altersstandardisierten Inzidenz von 9,1/100.000 Einwohner auf, wohingegen weniger entwickelte Gebiete eine altersstandardisierte Inzidenz von 5,0/100.000 Einwohner zeigten [3].

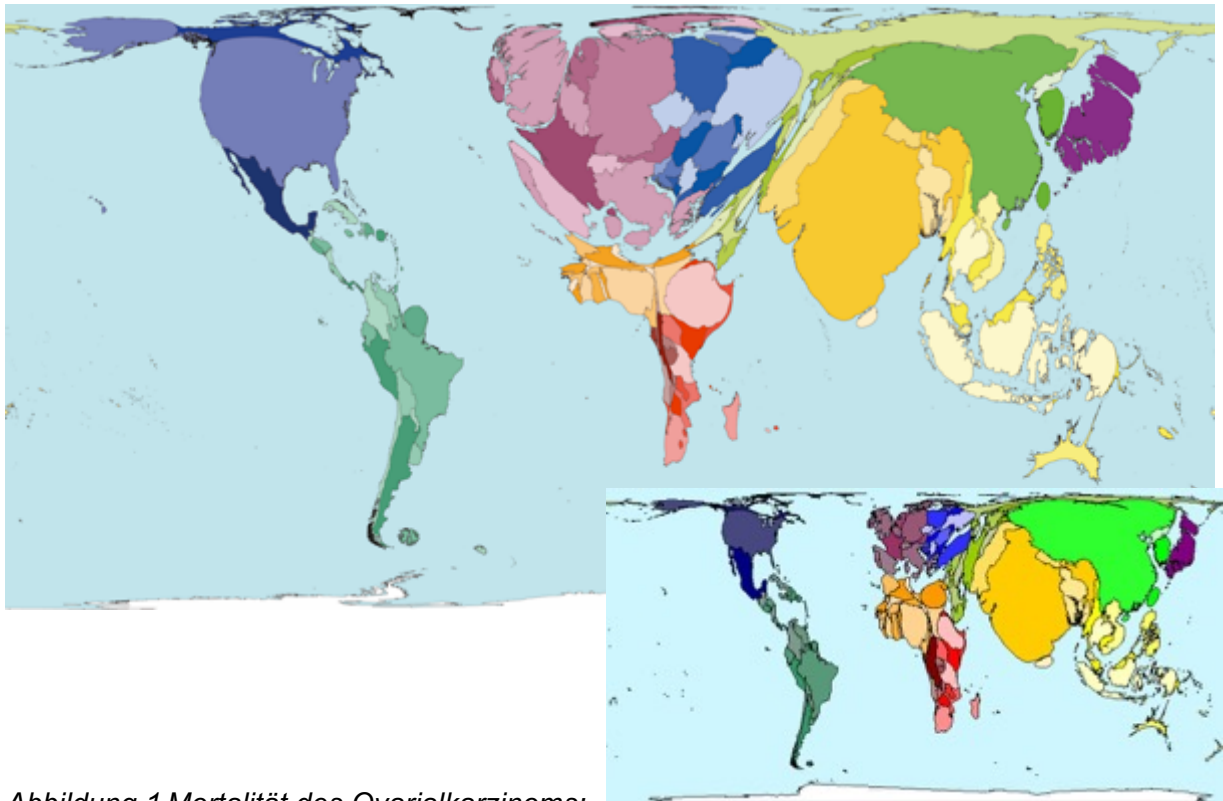
In Abbildung 1 ist die Größe der Länder proportional zur absoluten Zahl der innerhalb eines Jahres an einem Ovarialkarzinom verstorbenen Frauen dargestellt. Vorrangig stechen in dieser Abbildung Europa und die USA im Vergleich zur populationsbezogenen Weltkarte darunter durch eine hohe Mortalität heraus. Im Gegensatz dazu sind asiatische, afrikanische und südamerikanische Länder weniger häufig betroffen. Dies verdeutlicht die Relevanz des Ovarialkarzinoms gerade für Deutschland und die gesamte westliche Welt.

5.431 Frauen verstarben 2015 in Deutschland am Ovarialkarzinom; dies entspricht 5,3% aller auf eine Krebserkrankung zurückzuführenden Todesfälle deutscher Frauen und einer rohen Mortalität von 13,1 pro 100.000 Frauen. Das mittlere Erkrankungsalter lag bei 70 Jahren. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate betrug 41% [2].

Sowohl in den USA als auch in Deutschland ist seit den 1990er Jahren ein konstanter Rückgang der Erkrankungsraten zu bemerken; die altersstandardisierte Mortalitätsrate ist ebenfalls leicht rückläufig [4, 5]. Erklärt wird dies unter anderem durch die vermehrte Einnahme von oralen Kontrazeptiva seit den 1960er Jahren [6]. Ebenfalls wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein reduzierter Einsatz von postmenopausalen Hormonersatzpräparaten – sowohl nur Östrogen als auch die Kombinationstherapie aus Östrogen und Gestagen – in Folge der Veröffentlichung der Studienergebnisse der Women's Health Initiative im Jahr 2003 zu einer Verminderung der Inzidenz beigetragen haben könnte [7, 8].

---

<sup>a</sup> ICD-10 = Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme; weltweit anerkanntes Diagnoseklassifikationssystem der WHO



*Abbildung 1 Mortalität des Ovarialkarzinoms: Verzernte Weltkarte – Die Größe der Länder ist proportional zur absoluten Anzahl der an einem Ovarialkarzinom verstorbenen Frauen dargestellt (großes Bild). Zum Vergleich eine die allgemeine Bevölkerungszahl der Länder darstellende Weltkarte (kleines Bild).  
© Copyright Sasi Group (University of Sheffield) and Mark Newman (University of Michigan); Stand 2002 Internetquelle: [http://archive.worldmapper.org/display\\_extra.php?selected=430](http://archive.worldmapper.org/display_extra.php?selected=430) und <http://archive.worldmapper.org/display.php?selected=2#> (07.06.2018)*

Von prognostischer Bedeutung für das Überleben sind vor allem die Größe des Resttumors nach chirurgischer Tumorexzision, das Alter der Patientin und ihr Allgemeinzustand sowie das FIGO-Stadium [9, 10]. Frauen, die zum Zeitpunkt der Diagnose unter 65 Jahre alt sind, haben bessere Überlebensraten als Frauen über 65 [5, 11].

Gründe für die, im Vergleich zu anderen malignen Neoplasien, schlechteren Überlebensraten sind in dem Fehlen eines geeigneten Screenings und klinischer Symptome und der Resistenz gegenüber Zytostatika [12] zu finden. Der Großteil der Patientinnen (61,5%) hat zum Zeitpunkt der Diagnose ein fortgeschrittenes Tumorstadium (FIGO III oder IV), dieser Anteil ist bei den über 65-Jährigen noch größer [4]. FIGO-I-Tumoren haben eine 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 90%, wohingegen das 5-Jahres-Überleben von Tumoren im FIGO-Stadium III/IV ca. 40% beträgt [12].

### 1.2.3 Histologie

Makroskopisch sichtbar ist die Gliederung des Ovars in Ovarrinde und Ovarmark. Die Ovarrinde ist histologisch dreigeteilt: Oberflächlich ist das Müller-Oberflächenepithel (Abk. OSE), bei dem es sich um ein einschichtiges, flaches bis isoprismatisches Epithel handelt [1, 13], zu finden. Darunter liegt eine dichte Bindegewebsschicht, das Stroma, in das die Keimzellen (Eifollikel) eingebettet sind. Das darunterliegende Mark besteht aus lockerem Bindegewebe, in dem Blut- und Lymphgefäße verlaufen. Dieser histologischen Untergliederung entsprechend können auch Ovarialtumoren den drei Gewebstypen der Ovarrinde zugeordnet werden: Epitheliale Tumoren, Keimstrang-Stroma-Tumoren und Keimzelltumoren. Ferner wird hier unterschieden zwischen der benignen und der malignen Dignität. Benigne Tumoren zeigen per definitionem kein invasives Wachstum und keine Metastasierung, wohingegen dieses Verhalten und die Fähigkeit zur Destruktion für maligne Tumoren charakteristisch ist [1].

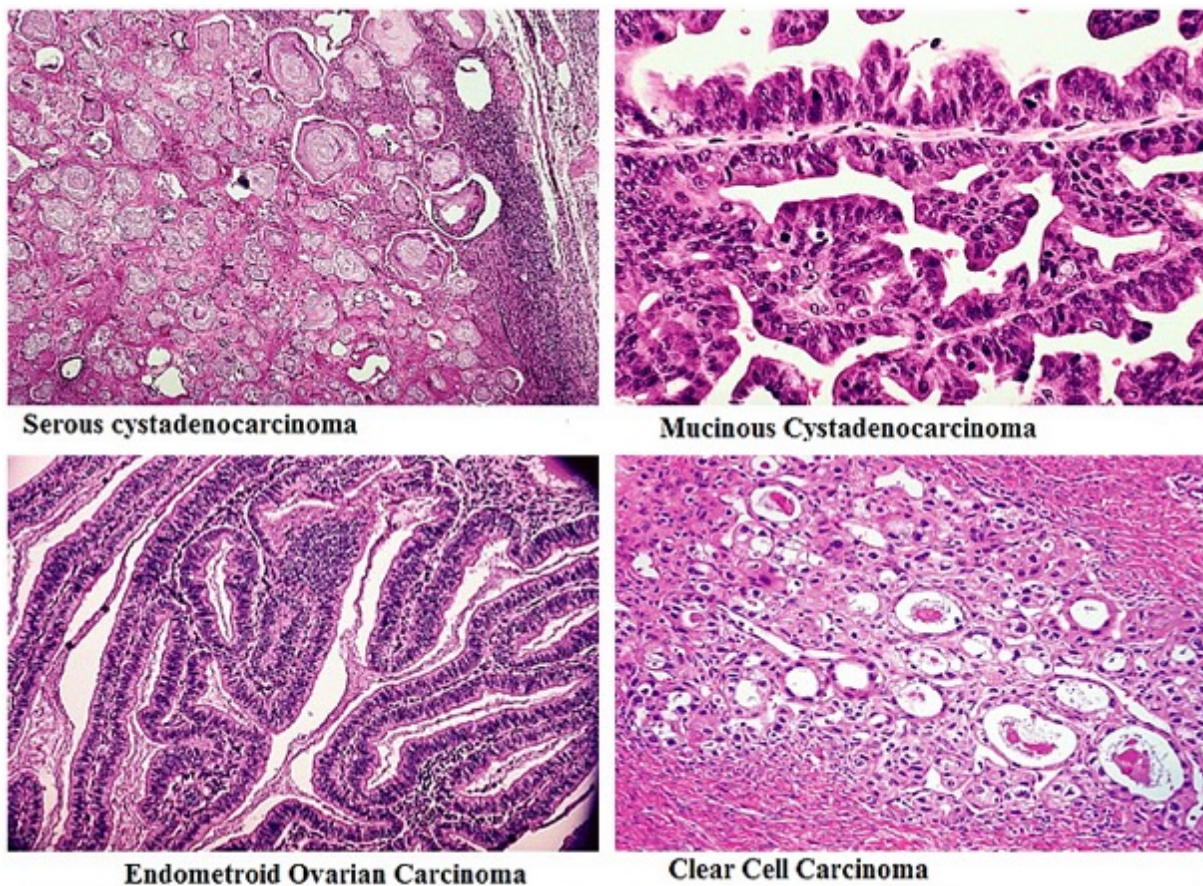
Die Gruppe der epithelialen Ovarialtumoren umfasst neben den benignen und malignen Tumoren die sogenannten Borderline-Tumoren, welche zwar atypisch proliferieren, sich jedoch non-invasiv und nicht-destruierend verhalten. Im Rahmen der serösen Borderline-Tumoren treten häufig sogenannte Implantate auf. Hierbei handelt es sich um atypische, meist peritoneal lokalisierte Epithelproliferate. Diese wurden bis zur aktuellen WHO-Klassifikation unterteilt in nicht-invasive und invasive Implantate. Unter den nicht-invasiven Implantaten verstand man Epithelproliferate, welche eine Assoziation zur peritonealen Oberfläche aufwiesen, dabei mit oder ohne desmoplastischer Stromareaktion (epithelialer und desmoplastischer Typ). Die invasiven Implantate hingegen zeigten ein infiltratives Wachstum in das darunterliegende Gewebe. Da sich die ehemaligen invasiven Implantate klinisch wie low-grade Karzinome verhalten, werden diese nach der aktuellen WHO-Klassifikation auch als low-grade Karzinome klassifiziert. Nur noch die ehemaligen nicht-invasiven Implantate werden als Implantate bezeichnet [14]. Histologisch werden, wie auch die benignen und malignen Tumoren, die Borderline-Tumoren in seröse, muzinöse, seromuzinöse, endometrioide, klarzellige, transitionalzellige sowie gemischte Subtypen eingeteilt [15]. Das mittlere Erkrankungsalter liegt mit 42 Jahren weit unter dem der Patientinnen mit invasiven Karzinomen. In der Mehrzahl der Fälle bleibt der Tumor auf das Ovar begrenzt (Stadium I) und die Patientinnen haben keine verkürzte Lebenserwartung [14].

### Epitheliale Tumoren

- **Seröse Tumoren**
  - Benigne Tumoren
  - Borderline-Tumoren
  - Maligne Tumoren
    - Seröse low-grade Karzinome
    - Seröse high-grade Karzinome
- **Muzinöse Tumoren**
  - Benigne Tumoren
  - Borderline-Tumoren
  - Maligne Tumoren
    - Muzinöse Karzinome
- **Endometrioid Tumoren**
  - Benigne Tumoren
  - Borderline-Tumoren
  - Maligne Tumoren
    - Endometrioid Karzinome
- **Klarzelltumoren**
  - Benigne Tumoren
  - Borderline-Tumoren
  - Maligne Tumoren
    - Klarzellkarzinome
- **Transitionalzelltumoren (Brenner-Tumoren)**
  - Benigne Tumoren
  - Borderline-Tumoren
  - Maligne Tumoren
    - Maligne Brenner-Tumoren
- **Undifferenzierte Karzinome**
- **Seromuzinöse Tumoren**
  - Benigne Tumoren
  - Borderline-Tumoren
  - Maligne Tumoren
    - Seromuzinöse Karzinome



Die serösen Karzinome sind mit einem prozentualen Anteil von ca. 70% die größte Untergruppe der malignen epithelialen Neoplasien, gefolgt von den endometrioiden (ca. 10%) [16] und den muzinösen Karzinomen (3-4%) [14], siehe Abbildung 2. Die weiteren Subtypen treten seltener auf. Mit der aktuellen WHO-Klassifikation der histologischen Subtypen von 2014 etablierte sich erstmals die Gruppe der seromuzinösen Tumoren. Diese waren vorher als endozervikaler Typ der Gruppe der muzinösen Tumoren untergeordnet. Molekularpathologische Untersuchungen zeigten jedoch, dass diese Einteilung der Tumorentität aufgrund ihrer häufigen Mutation im ARID1A-Gen nicht gerecht wurde. Da die Klassifikation noch sehr jung ist, sind Aussagen über die Ätiologie, Prävalenz und Prognose dieses Tumortyps noch nicht sicher zu treffen [17].



*Abbildung 2 Die häufigsten histologischen Subtypen des Ovarialkarzinoms (mikroskopisch vergrößert, Hämatoxylin-Eosin-Färbung), Internetquelle: © Copyright Women's Health and Education Center, Current Ovarian Cancer Management; <http://www.womenshealthsection.com/content/gyno/gyno026.php3> (07.06.2018)*



### 1.2.4 Ätiologie und Pathogenese

Der Großteil der Ovarialkarzinome tritt sporadisch auf. Ein kleiner Teil hingegen beruht auf vererbten Genmutationen wie zum Beispiel jenen, die die Breast Cancer Genes (Abk. BRCA) betreffen; in der Literatur wird von einem ungefähren prozentualen Anteil von 14% an allen Ovarialkarzinomen ausgegangen [18, 19]. Die Gene BRCA1 und BRCA2 kodieren für mehrere Tumorsuppressorproteine, die vor allen Dingen eine essentielle Rolle in der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen einnehmen. Patientinnen mit einer Mutation in diesen Genen haben insbesondere ein erhöhtes Risiko an Mamma-, Ovarial- und Peritonealkarzinomen zu erkranken [20].

Im Gegensatz zu anderen Krebsarten war die Ätiologie der Ovarialkarzinome durch das Fehlen eines sicheren Tumorprogressionsmodells, wie es beispielsweise bei Kolonkarzinomen als Adenom-Karzinom-Sequenz bekannt ist, bis zum Ende des letzten Jahrhunderts noch gänzlich unklar. Dementsprechend schwierig gestaltete sich auch die Entwicklung einer adäquaten Therapie, schließlich wurden alle Ovarialkarzinome als einheitliche Entität gewertet und dem gleichen therapeutischen Konzept zugeführt. Erst in den letzten zehn bis fünfzehn Jahren konnten in der Erforschung der Ätiologie und Pathogenese der Ovarialkarzinome große Fortschritte erzielt werden.

Kurman und Shih schlugen im Jahr 2004 im American Journal of Pathology ein neues Modell zur Beschreibung der Pathogenese des Ovarialkarzinoms vor [21]. Hierfür unterschieden sie aus pathogenetischer Sicht zwischen zwei eigenständigen Tumorsubgruppen, den Typ-I- und Typ-II-Tumoren. Tabelle 1 listet die dazugehörigen histologischen Subtypen auf.

Typ-I-Tumoren	Typ-II-Tumoren
Seröse low-grade Karzinome	Seröse high-grade Karzinome
Muzinöse Karzinome	Karzinom Sarkome
Endometrioides low-grade Karzinome	Endometrioides high-grade Karzinome
Klarzellkarzinome	Undifferenzierte Karzinome
Maligne Brenner-Tumoren	

*Tabelle 1 Histologische Subtypen nach Aufteilung in Typ-I- und Typ-II-Tumoren [21, 22]*

Molekulargenetische Untersuchungen und klinische Investigation zeigten, dass es sich bei den Typ-I-Tumoren um langsam über Jahrzehnte wachsende Tumoren handelt, die im Falle der serösen Tumoren über die Stufe der Borderline-Tumoren aus bekannten benignen Vorläufern wie den Zysten und Adenofibromen, bei endometrioiden und klarzelligen

Karzinomen aus Endometrioseherden, entstehen. Kurman und Shih konnten somit das erste anerkannte Tumorprogressionsmodell für Ovarialkarzinome herleiten. Die Typ-I-Tumoren sind meist gut differenziert und auf das Ovar beschränkt, machen jedoch nur 25% der malignen Tumoren aus. Kurman und Shih entdeckten, dass sich KRAS- und BRAF-Mutationen in 65% der serösen Typ-I-Tumoren finden ließen, jedoch nicht in Typ-II-Tumoren. Die gleichen Mutationen traten auch in den Borderlinetumoren auf [23]. Bei der RAS/RAF/MEK/ERK/MAP-Kaskade handelt es sich um eine ubiquitär vorhandene Signalkaskade, bei der durch Bindung eines Liganden an einen membranständigen Rezeptor über die Aktivierung verschiedener Kinasen<sup>b</sup> ein Signal in den Nukleus fortgeleitet wird und hierdurch die Transkription diverser Gene beeinflusst wird. Die RAS/RAF/MEK/ERK/MAP-Kaskade ist insbesondere beteiligt an der Steuerung von Zellproliferation sowie Zellteilung. Durch KRAS- und BRAF-Mutationen ist die RAS/RAF/MEK/ERK/MAP-Kaskade konstitutiv aktiviert, sodass Wachstumssignale kontinuierlich ohne entsprechenden Wachstumsstimulus in den Nukleus geleitet werden. Somit spielen sie eine große Rolle in der Tumorprogression.

Typ-II-Tumoren sind im Gegensatz dazu hoch-aggressiv, genetisch instabil und hatten in 50-80% Mutationen in p53 sowie in 20-67% eine Überexpression von Her2/neu (siehe Kapitel 1.3.5) und in 12-18% von der Serin/Threonin-Kinase AKT2 [21]. Das Protein p53, der „Wächter des Genoms“, ist ein Transkriptionsfaktor, der bei Zellschädigung an der Induktion der Apoptose beteiligt ist. In vielen Tumoren ist p53 mutiert, sodass ein unkontrolliertes Zellwachstum stattfinden kann. AKT2 ist ein Onkogen, welches in verschiedenen Tumoren überexprimiert ist. In gesunden Zellen ist das Genprodukt an vielen Prozessen beteiligt wie zum Beispiel der Proliferation, Angiogenese und dem Metabolismus [24]. Eine Vorläuferläsion mit einem daraus folgenden Tumorprogressionsmodell ließ sich für Typ-II-Tumoren nicht finden, weshalb man von einem de-novo-Auftreten ausging [21].

In seltenen Fällen konnte auch ein Übergang eines LGSCs in ein HGSC beobachtet werden, wobei molekulargenetische Untersuchungen andeuteten, dass es sich hierbei um einen anderen, noch unbekannten Pfad der Tumorgenese handeln könnte [25].

Bis zum Beginn des 21. Jahrhunderts ging man davon aus, dass das Ovarialkarzinom aus dem OSE entsteht [26]. Fathalla stellte 1971 die Hypothese („incessant ovulation theory“) auf, dass die häufigen, über Jahrzehnte wiederkehrenden Ovulationen der modernen Frau (bedingt durch frühe Menarche, späte Menopause, Nulli- oder Oligoparität) mit der daraus folgenden Hormon-induzierten Verletzung des OSE eine wichtige Rolle in der Onkogenese darstellen könnten [27]. Die monatliche Ovulation bedingt laut Fathalla die Notwendigkeit

---

<sup>b</sup> Kinasen sind Enzyme, welche Phosphatreste von einem Nucleosidtriphosphat auf andere Substrate übertragen. Hierdurch werden Enzyme aktiviert und Signalkaskaden initiiert bzw. aufrechterhalten.

repetitiver Reparaturvorgänge als Basis für neue Desoxyribonuklein-Säure (Abk. DNS)-Schäden, indem durch den schnellen Gonadotropin-Anstieg ein inflammatorischer Prozess ausgelöst wird, Sauerstoffradikale ausgeschüttet werden und gleichzeitig das OSE der östrogenreichen Follikelflüssigkeit ausgesetzt ist [28]. Dieser inflammatorische Prozess könnte zusammen mit der Hormon-Exposition auch die Bildung von Inklusionszysten (Abk. CIC) begünstigen. Es wird vermutet, dass diese CICs durch Invagination von OSE während des Ovulationsprozesses entstehen [14]. Dieser Theorie zufolge entwickeln sich Ovarialkarzinome sowohl aus dem OSE als auch dem Epithel stromaler CICs [29].

Ovarialkarzinome ähneln morphologisch jenen Karzinomen, deren Ursprungsgewebe embryologisch vom Müller-Gang abstammen (Tuben, Uterus und Vagina) [30]. Das Ovar selbst entsteht jedoch nicht aus dem Müller-Gang, sondern aus der Genitalleiste, in die die sogenannten Urkeimzellen als Follikelanlage einwandern. Vermehrt ist man nun der Meinung, dass das Ovarialkarzinom ursprünglich im distalen Teil der Tube, vor allem den Fimbrien, entsteht. Einige Autoren beschrieben, dass bei Patientinnen, die wegen eines erhöhten Risikos an einem Ovarialkarzinom zu erkranken - zum Beispiel solche mit BRCA1-Mutation - salpingoophorektomiert wurden, häufig dysplastische Areale bis hin zu non-invasiven und invasiven Karzinomen in den Tuben gefunden werden konnten [31-34]. Die Gruppe der intraepithelialen Karzinome wurde analog zur Bezeichnung der zervikalen Neoplasien „serous tubal intraepithelial carcinomas“ (Abk. STIC), übersetzt „seröse tubare intraepitheliale Karzinome“, genannt [14, 35]. Molekulargenetische Untersuchungen ließen aufgrund von identischen *TP53*-Mutationen (die sogenannten p53-Signaturen) vermuten, dass es eine klonale Beziehung zwischen STICs und dazugehörigen HGSCs gibt und daher STICs als Vorläuferläsionen der Ovarialkarzinome gewertet werden können [36].

Definitionsgemäß zeichnen sich STICs weiterhin durch einen erhöhten Ki67-Proliferationsindex aus [37]. Ki67 ist ein nukleäres Protein, das die Wachstumsfraktion einer Zellpopulation und damit die Tumorprogression widerspiegelt [38].

Eventuell begünstigt die örtliche Nähe zwischen den Fimbrien und den Ovarien, an denen der Ovulationsprozess mit konsekutiver Inflammation stattfindet, das Auftreten der Dysplasien im Bereich der Fimbrien bzw. Tuben. Atypische Epithelzellen können dabei von den Fimbrien auf die Oberfläche des Ovars abtropfen, invaginiert werden und später Inklusionszysten auskleiden, siehe Abbildung 3. Im ovariellen Stroma könnten durch die hohen Hormonspiegel proliferationsbegünstigende Bedingungen vorherrschen und dadurch das Tumor-Wachstum beschleunigt werden. Des Weiteren könnten diese atypischen Zellen im gleichen Augenblick auch in das Peritoneum streuen [26].



### 1.2.5 Risikofaktoren

Einige der Risikofaktoren, die die Entstehung eines Ovarialkarzinoms begünstigen, sind bereits aus ätiologischen und pathogenetischen Faktoren abzuleiten. Insbesondere zeigen Frauen mit häufigen, ununterbrochen auftretenden Ovulationen ein erhöhtes Risiko, sei dies hervorgerufen durch eine frühe Menarche und späte Menopause oder auch durch Nulliparität [40-42]. Weitere Risikofaktoren sind:

- *Hereditäre Prädisposition:* Keimbahnmutationen in den BRCA1- und BRCA2-Genen sind ursächlich für vermutlich ca. 20% aller HGSCs [18, 43]. Ebenso erkrankten 10-13% der Patientinnen mit einem Lynch-Syndrom (auch „hereditäres nichtpolypöses kolorektales Karzinom“, Abk. HNPCC, genannt) an einem Ovarialkarzinom [40]. Das Lynch-Syndrom ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, die mit der Entwicklung verschiedener Krebsarten assoziiert ist.
- *Endometriose:* Die Endometriose ist eine gutartige Erkrankung, bei der sich Gebärmutter Schleimhaut außerhalb des Uterus nachweisen lässt. Die Endometriose im Ovar, insbesondere die atypische Endometriose, wird als Vorläuferläsion für das endometrioides und klarzellige Ovarialkarzinom gesehen [44, 45].
- *Polyzystisches Ovar-Syndrom (Abk. PCOS):* Das PCOS ist eine Stoffwechselstörung, die gekennzeichnet ist durch zahlreiche ovarielle Zysten einhergehend mit erhöhten Androgenspiegeln, Zyklusunregelmäßigkeiten sowie Sterilität. Das Syndrom ist assoziiert mit Adipositas sowie Insulinresistenz. Die Datenlage bezüglich des PCOS als Risikofaktor für das Ovarialkarzinom ist kontrovers, jedoch gibt es Hinweise, dass das PCOS das Risiko für ein Ovarialkarzinom erhöht [10, 46, 47].
- *Adipositas:* In moderatem Umfang korreliert Adipositas (Body-Mass-Index  $> 30\text{kg/m}^2$ ) mit einem höheren Erkrankungsrisiko [40, 48, 49].
- *HET:* Die Datenlage zum Einfluss einer postmenopausalen HET auf die Inzidenz des Ovarialkarzinoms ist bislang nicht sicher geklärt. Die North American Menopause Society erklärte in ihrer Stellungnahme aus dem Jahr 2017, dass aktuell maximal von einer niedrigen bis sehr niedrigen Risikoerhöhung für die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms durch Anwendung einer postmenopausalen HET ausgegangen werden sollte [50].

Im Gegensatz dazu zeigten sich die Einnahme von oralen Kontrazeptiva, eine längere Stildauer, eine vermehrte Vitamin-D-Bildung durch erhöhte Sonneneinstrahlung sowie Zwillingschwangerschaften als protektive Einflussfaktoren [40].

### 1.2.6 Grading

Ein für alle histologischen Subtypen international gültiges Graduierungsschema konnte bisher nicht etabliert werden. Aufgrund der unterschiedlichen Histomorphologie und in der Zwischenzeit auch bekannten unterschiedlichen Ätiopathogenese ließen sich verschiedene Versuche eines einheitlichen Graduierungssystems nicht auf die verschiedenen Histologien übertragen bzw. korrelierten nicht mit den üblichen klinischen Parametern und der Prognose der Patientinnen [51-53]. Während in den USA häufig das System der Gynecologic Oncology Group (Abk. GOG), das den histologischen Subtyp, die Zytologie und Architektur beurteilt, verwendet wurde, bediente man sich in deutschen pathologischen Instituten eher der Systeme nach der Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (Abk. FIGO), der World Health Organization (Abk. WHO) oder nach Silverberg. Alle drei Gradingssysteme sind dreistufig, wobei das FIGO-Schema keine zytologischen Kriterien berücksichtigt. Das WHO-Schema hingegen beinhaltet sowohl die Architektur als auch die Zytologie der Tumorzellen [51].

Das Pathologische Institut der LMU München wandte bis einschließlich 2013 zumeist das Gradingssystem nach Silverberg an. Silverberg schlug dieses Gradingssystem als universal gültiges, von allen Pathologen durchführbares und prognostisch relevantes System im Jahr 2000 vor [52, 54] (siehe Tabelle 2).

Punktwerte	1	2	3
<b>Architektur</b>	Glandulär	Papillär	Solide
<b>Kernpleomorphie<sup>c</sup></b>	Relativ uniforme vesikuläre Kerne; Kerngrößenvariation $\leq 2:1$ ; keine prominenten Nukleolen	Kerngrößenvariation zwischen 2:1 und 4:1; kleine Nukleolen; keine bizarren Kerne	Kerngrößenvariation 4:1; große eosinophile Nukleolen; evtl. bizarre Kerne
<b>Mitosezahl/10 HPF<sup>d</sup></b>	0-9	10-24	>24

Tabelle 2 Gradingssystem nach Silverberg [4, 52]

<sup>c</sup> Kernpleomorphie = Vielgestaltigkeit der Zellkerne

<sup>d</sup> HPF = High power field; im Mikroskop sichtbares Areal eines Präparates bei 400facher Vergrößerung

Die Addition der vergebenen Punkte in den drei Kategorien führt zum Grading-Score, der den Differenzierungsgrad des Tumors angibt (siehe Tabelle 3).

Punkte	Differenzierung	Grad
3-5	Gut differenziert	1
6-7	Mäßig differenziert	2
8-9	Schlecht differenziert	3

Tabelle 3 Grading-Score nach Silverberg [4, 52]

Insbesondere das seröse Ovarialkarzinom zeigt sich ätiologisch als eigenständige Gruppe, welche überwiegend schlecht differenzierte und nur im geringen Maße gut differenzierte Tumoren beinhaltet. Mit der aktuellen „WHO Classification of tumours of the ovary“ von 2014 etablierte sich daher ein zweistufiges Grading-System für diese Karzinome (die serösen low-grade Karzinome und die serösen high-grade Karzinome). Dabei wird das von Malpica et al. am MD Anderson Cancer Center entwickelte Grading-Schema (MDACC) verwendet, welches den nukleären Atypiegrad und als Sekundärkriterium die Mitosezahl pro 10 HPF beurteilt (Tabelle 4). Beide Kriterien werden in solchen Arealen des Tumors beurteilt, welche sich durch die höchste mitotische Aktivität bzw. den größten Kernatypiegrad auszeichnen [55].

	Kernatypiegrad	Mitosen/10 HPF
<b>Seröse low-grade Karzinome</b>	Gering bis mittel; <3fache Größenvarianz; gleichmäßige Chromatinverteilung	≤ 12
<b>Seröse high-grade Karzinome</b>	≥3fache Größenvarianz; unregelmäßige Chromatinverteilung; Makronukleoli	> 12

Tabelle 4 MDACC-Grading-System [51, 55]

Die übrigen histologischen Subtypen werden aktuell folgendermaßen graduiert: Klarzellige und undifferenzierte Karzinome sind per definitionem high-grade (G3). Sowohl für muzinöse Karzinome als auch für maligne Brenner-Tumoren wird der Differenzierungsgrad nicht bestimmt, wobei manche Pathologen muzinöse Karzinome analog den endometrioiden Karzinomen klassifizieren. Endometrioide Karzinome werden analog den endometrioiden Karzinomen des Endometriums (G1 bis G3) graduiert [51, 53].

Das für diese Arbeit verwendete Kollektiv besteht zum größten Teil aus Karzinomen, die nach dem Grading-System nach Silverberg klassifiziert waren. Da Tissue Microarrays (Abk. TMA) verwendet wurden, konnte keine sinnvolle nachträgliche Graduierung durchgeführt werden.

### 1.2.7 Typischer Krankheitsverlauf und Staging

Typischerweise breitet sich das Ovarialkarzinom zunächst intraperitoneal in das kleine Becken, auf Darmschlingen, das Omentum majus, die Leberoberfläche sowie das Peritoneum parietale und lymphogen in pelvine und paraaortale Lymphknoten aus. Erst später beginnt die seltene hämatogene Aussaat in andere Organe wie die Lunge, die Pleura, die Knochen, das Leberparenchym und das Gehirn [1, 56, 57].

Das Staging eines Tumors dient der Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung sowie der Einordnung in therapierelevante Gruppen [58]. Aktuell werden für das Staging von Ovarialkarzinomen zwei verschiedene Klassifikationssysteme benutzt: Auf der einen Seite die TNM-Klassifikation, herausgegeben von der Union international contre le cancer (Abk. UICC), auf der anderen Seite das System der FIGO.

Bei der TNM-Klassifikation handelt es sich um eine klinisch-pathologische Klassifikation, die für alle Karzinome angewandt werden kann [59]. Bewertet werden die Tumorgroße „T“, der regionäre Lymphknotenbefall „N“ und die hämatogene Metastasierung „M“.

Die Stadieneinteilung nach FIGO, welche in der Klinik bevorzugt wird, beruht dagegen auf dem chirurgischen Staging, das im Rahmen der Primäroperation durchgeführt wird und ist auf die Beurteilung von gynäkologischen Tumoren beschränkt [59].

Als regionäre Lymphknoten gelten Lymphknoten an den Arteriae (Abk. Aa.) iliacae internae, communes und externae und die lateralen sakralen und paraaortalen Lymphknoten. Peritonealmetastasen und Metastasen auf der Leberkapsel gelten nicht als Fernmetastasen, die tumoröse Aussaat in das Leberparenchym jedoch schon (FIGO-Stadium IV) [4, 59]. Gegenüberstellung von TNM und FIGO siehe Tabelle 5.



<b>TNM-Kategorie</b>	<b>FIGO-Stadium</b>	<b>Tumoreigenschaften</b>
<b>T1</b>	<b>I</b>	<b>Tumor begrenzt auf Ovarien oder Tuben</b>
T1a	IA	Tumor auf ein Ovar oder Tube begrenzt; Kapsel intakt; keine malignen Zellen im Aszites oder in der Peritoneallavage
T1b	IB	Tumor auf beide Ovarien oder Tuben begrenzt; Kapsel intakt; keine malignen Zellen im Aszites oder in der Peritoneallavage
T1c	IC	Tumor begrenzt auf ein oder beide Ovarien oder Tuben mit nachfolgender Unterteilung
T1c1	IC1	Chirurgisch/operativ bedingte Kapselruptur
T1c2	IC2	Präoperative (spontane) Kapselruptur oder Tumor an Oberfläche von Ovarien oder Tuben
T1c3	IC3	Nachweis maligner Zellen im Aszites oder in der Peritoneallavage
<b>T2</b>	<b>II</b>	<b>Tumor befällt ein oder beide Ovarien oder Tuben oder primäres Peritonealkarzinom mit Ausbreitung im kleinen Becken</b>
T2a	IIA	Ausbreitung auf und /oder Implantate an Uterus und/oder Tube(n) und/oder Ovarien
T2b	IIB	Ausbreitung auf andere Gewebestrukturen im kleinen Becken
<b>T3 und/oder N1</b>	<b>III</b>	<b>Tumor befällt ein oder beide Ovarien oder Tube(n) oder primäres Peritonealkarzinom mit zytologisch oder histologisch nachgewiesener Ausbreitung außerhalb des kleinen Beckens und/oder regionäre Lymphknotenmetastasen</b>
N1	IIIA1	Ausschließlich regionäre Lymphknotenmetastasen (zytologisch oder histologisch nachgewiesen)
N1a	IIIA1i	Regionäre Lymphknotenmetastasen 10mm oder weniger im größten Durchmesser
N1b	IIIA1ii	Regionäre Lymphknotenmetastasen mehr als 10mm im größten Durchmesser
T3a	IIIA2	Mikroskopische Ausbreitung auf dem Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens mit oder ohne regionäre Lymphknotenmetastasen
T3b	IIIB	Makroskopische Ausbreitung auf dem Peritoneum außerhalb des kleinen Beckens bis maximal 2cm größter Ausdehnung mit

		oder ohne regionäre Lymphknotenmetastasen
T3c und/oder N1	IIIC	Makroskopische Ausbreitung außerhalb des kleinen Beckens, von mehr als 2cm größter Ausdehnung, mit oder ohne regionäre Lymphknotenmetastasen (einschließlich einer Tumorausbreitung auf der Kapsel von Leber und Milz ohne Parenchyembefall des jeweiligen Organs)
<b>M1</b>	<b>IV</b>	<b>Fernmetastasen (jedoch nicht Peritonealmetastasen)</b>
M1a	IVA	Pleuraerguss mit positiver Zytologie und/oder histologischer Sicherung des Pleurabefalls
M1b	IVB	Parenchymmetastasen und/oder Metastasen in extraabdominalen Organen (eingeschlossen Nabelmetastasen sowie Metastasen in inguinalen Lymphknoten und Lymphknoten außerhalb des Abdomens)

NX	Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen
N1a	Lymphknotenmetastasen 10mm oder weniger im größten Durchmesser
N1b	Lymphknotenmetastasen mehr als 10mm im größten Durchmesser
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
M1a	Pleuraerguss mit positiver Zytologie oder positiver Histologie
M1b	Parenchymale Metastasen und Metastasen in extraabdominalen Organen (eingeschlossen inguinale Lymphknoten und Lymphknoten außerhalb des Abdomens)

Tabelle 5 Stadieneinteilung nach FIGO und TNM [59, 60]

### **1.2.8 Klinik**

#### **1.2.8.1 Symptome**

Verantwortlich für die zumeist sehr spät stattfindende Diagnosestellung ist die unspezifische Symptomatik des frühen Ovarialkarzinoms. Häufig werden diese Symptome von den Frauen und ihren Ärzten verkannt und anderen Erkrankungen, wie zum Beispiel dem Reizdarmsyndrom [61], zugeschrieben. Eine Studie von Vine et al. demonstriert, dass Patientinnen mit einem invasiven Ovarialkarzinom im Median bereits vier Monate vor dem Diagnosezeitpunkt erste Symptome aufwiesen, die sie veranlassten einen Arzt aufzusuchen [61].

Folgende Symptome können auf ein Ovarialkarzinom hinweisen [10, 62-65]:

- abdominale Schmerzen
- distendiertes, hartes Abdomen
- unerklärlicher Gewichtsverlust
- vergrößerter Bauchumfang
- im Bauchraum tastbare Raumforderung
- vaginale Blutungen unabhängig von der Menstruationsblutung
- Appetitlosigkeit und Völlegefühl
- Müdigkeit
- Symptome der ableitenden Harnwege wie häufiges Wasserlassen und Urge-Symptomatik (Drang-Symptomatik)
- Schmerzen beim Geschlechtsverkehr (Dyspareunie)

Hervorgerufen wird ein Großteil dieser Symptome durch das expansive Wachstum des Tumors mit Kompression benachbarter Organe sowie durch die frühe Metastasierung in das Peritoneum mit der einhergehenden Aszites-Bildung.

#### **1.2.8.2 Diagnostik**

Für die Detektion eines Ovarialkarzinoms stehen verschiedene diagnostische Maßnahmen zur Verfügung. Hoch sensitive und spezifische Verfahren sind notwendig, um einerseits eine maligne Neubildung nicht zu übersehen und andererseits unnötige diagnostische Schritte bei gesunden Frauen zu vermeiden. Gleichzeitig sind effektive Screening-Methoden erwünscht, um die Erkrankung in einem möglichst frühen Stadium zu diagnostizieren und damit die Überlebenschancen der Patientinnen zu steigern.

Die transvaginale Sonografie (Abk. TVS) ist der diagnostische Goldstandard. Detektiert werden können erstens morphologische Auffälligkeiten und zweitens veränderte Volumenverhältnisse im Becken [66].

Laut der aktuellen S3-Leitlinie sollen weitere diagnostische Schritte eingeleitet werden, sobald eine Frau persistierende Symptome wie Völlegefühl, unklare abdominelle Schmerzen, Blähungen sowie Zunahme der Miktionsfrequenz schildert, insbesondere bei Frauen über 50 Lebensjahren. Zur Abklärung des Beschwerdebildes sollen zunächst eine gynäkologische Spiegel- und Tastuntersuchung sowie eine TVS durchgeführt werden [67].

Besonderes Augenmerk wird dabei auf mögliche Malignitätskriterien wie papilläre oder solide Anteile in zystischen Raumforderungen, verdickte Zystenwände, Septierungen, Vaskularisationen in papillären oder soliden Arealen, Aszites und die Verdickung des Peritoneums gerichtet [4]. Zur weiteren Abklärung pelviner Raumforderungen werden MRT, CT, PET und PET/CT eingesetzt. Sie liefern zuverlässigere Ergebnisse bei der Beurteilung der Tumoraussaat in das Abdomen als die TVS [67]. Nichts desto trotz können diese technischen Hilfsmittel die Tumor-Resektabilität nicht prophezeien und können deswegen das routinemäßig durchgeführte, operative Staging nicht ersetzen [4].

Anfang der 1980er Jahre wurde der potentielle Tumormarker Cancer-Antigen 125 (Abk. CA 125) von Bast et al. entdeckt [68-70]. CA 125, auch als MUC 16 bekannt, wird auf den Zellmembranen von epithelialen Ovarialtumoren sowie anderen Derivaten des Zölomepithels wie Pleura, Peritoneum und Perikard, sowie Endometrium und Tuba ovarii exprimiert [69]. Im Rahmen der Früherkennung ist CA 125 aufgrund seiner niedrigen Spezifität und Sensitivität nicht empfohlen [67]. Ebenso wenig konnte der Einsatz von CA 125 in der Rezidivdiagnostik die Mortalität senken [71].

Ein weiterer Tumormarker ist das in den 1990er Jahren entdeckte human epididymis protein 4 (Abk. HE4), der insbesondere im Zusammenhang mit der Endometriose spezifischer ist als CA 125 [72]. Aufgrund seiner jedoch fraglichen Spezifität und Sensitivität für die Differenzierung von benignen und malignen Prozessen am Ovar wird er in der Routinediagnostik nicht eingesetzt [73].

Wegen der niedrigen Inzidenz des Ovarialkarzinoms und der niedrigen Spezifität etablierter Diagnosemittel wird ein generelles Screening der Allgemeinbevölkerung nach der aktuellen Leitlinie nicht empfohlen [67].

Das Fehlen eines adäquaten Screening-Systems spiegelt sich auch bei BRCA1- und BRCA2-Mutationsträgerinnen wider. Regelmäßige Untersuchungen mittels TVS und CA 125-Bestimmung führten nicht zu einer Diagnosestellung in einem frühen Stadium, wie man es sich erhofft hatte. Derzeit werden Screening-Methoden, die mehrere Tumormarker

beinhalten, erprobt. Die sicherste Primärprävention bietet bei dieser Patientengruppe die prophylaktische bilaterale Salpingoophorektomie [74, 75].

### **1.2.8.3 Therapie**

Leitliniengerecht wird jede Patientin mit einem Ovarialkarzinom primär operativ therapiert. Das Staging wird im Rahmen der Operation (Längsschnittlaparotomie) vorgenommen. Die operativen Stagingschritte umfassen die Inspektion und Palpation des gesamten Abdomens mit Durchführung einer Peritonealzytologie sowie die Entnahme von Biopsien aus suspekten Arealen ebenso wie aus unauffälligen Regionen des Peritoneums. Im Anschluss folgen die Hysterektomie, die beidseitige Adnexexstirpation, die infragastische und infracolische Omentektomie sowie die pelvine und paraaortale Lymphonodektomie. Bei muzinösen und histologisch unklaren Karzinomen wird zusätzlich eine Appendektomie durchgeführt. Wenn möglich und erwünscht kann bei unilateralen Tumoren im FIGO-Stadium I zur Fertilitätserhaltung der Verzicht auf die Adnexexstirpation und Hysterektomie erwogen werden. Voraussetzung hierfür ist eine umfassende Aufklärung der Patientin über eine erhöhte Rezidivrate [67].

Nach erfolgreichem Staging wird zwischen frühen und fortgeschrittenen Ovarialkarzinomen unterschieden und anhand dieser Differenzierung das weitere Therapieprozedere festgelegt.

Das frühe Ovarialkarzinom entspricht den FIGO-Stadien I bis IIA, Tumoren im FIGO-Stadium IIB bis IV werden fortgeschrittene Ovarialkarzinome genannt. Bei fortgeschrittenen Ovarialkarzinomen können zusätzlich Eingriffe am Darm mit teils ausgedehnten Resektionen, am Urogenitaltrakt und im Oberbauch (z.B. Resektion von Lebermetastasen, Splenektomie, Resektion des parietalen, viszeralen und Zwerchfell-Peritoneums) notwendig sein. Entscheidend für die Prognose der Patientinnen ist die makroskopische Tumorfreiheit [4, 67].

Die postoperative systemische Therapie richtet sich nach dem FIGO-Stadium: Lediglich Patientinnen im Stadium IA Grad 1 benötigen nach komplettem operativem Staging keine adjuvante Chemotherapie. Alle anderen Patientinnen erhalten eine adjuvante Chemotherapie. Platin- und taxanhaltige Chemotherapeutika sind Mittel der ersten Wahl. Aufgrund der im Vergleich günstigeren Nebenwirkungsprofile werden aus diesen beiden Gruppen bevorzugt Carboplatin und Paclitaxel verwendet [4]. Tabelle 6 zeigt die Empfehlungen der aktuellen Leitlinie zur adjuvanten Chemotherapie (Abk. CTx):

FIGO-Stadium	Leitliniengerechte CTx
IA G1	Keine adjuvante CTx
IA G2; IB G1/2	Evtl. platinhaltige CTx (Monotherapie)
IC; IA/B G3	6 Zyklen platinhaltige CTx (Monotherapie)
IIB-IV	6 Zyklen platin- und taxanhaltige CTx (Kombinationstherapie)

*Tabelle 6 Stadienadaptierte CTx [67]*

Bei Auftreten eines Rezidivs wurde bislang zwischen platinsensitiven und platinresistenten Ovarialkarzinomen unterschieden. Die Grenze wurde hier sechs Monate nach Abschluss der platinhaltigen CTx gezogen. Tritt das Rezidiv frühestens sechs Monate nach Abschluss der letzten CTx auf, so handelt es sich um ein platinsensitives Ovarialkarzinom, platinresistente Rezidive treten innerhalb der ersten sechs Monate nach Abschluss der letzten platinhaltigen CTx auf. Von dieser strikten Differenzierung wird nach aktuellem Wissensstand Abstand genommen. Für die Wahl des adäquaten therapeutischen Prozederes müssen zusätzliche Faktoren berücksichtigt werden, neben klinischen Parametern wie dem Alter und Allgemeinzustand der Patientin ist insbesondere der BRCA-Mutationsstatus von großer Relevanz. Aktuell hat sich im Hinblick auf die Rezidivtherapie die Unterscheidung zwischen platingeeigneten und nicht-platingeeigneten Rezidiven etabliert [67].

Bei platingeeigneten Rezidiven wird therapeutisch eine erneute platinhaltige Kombinations-CTx empfohlen mit dem Ziel, das progressionsfreie bzw. Gesamtüberleben zu verlängern. Auf die mögliche supportive Therapie mittels Bevacizumab wird weiter unten eingegangen. Ziel der Therapie nicht-platingeeigneter Ovarialkarzinome ist die Verbesserung der Lebensqualität. Hierfür wird eine nicht-platinhaltige Mono-CTx (Gemcitabine, pegyliertes liposomales Doxorubicin, Topotecan, Paclitaxel) empfohlen. Auch bei dieser Patientinnengruppe kann eine zusätzliche Therapie mittels Bevacizumab erwogen werden (siehe unten). Eine operative Rezidivtherapie scheint primär bei Patientinnen mit platinsensitiven Ovarialkarzinomen empfehlenswert zu sein. Die Strahlentherapie hat keinen Stellenwert in der Therapie des Ovarialkarzinoms, weder in der Primär- noch in der Rezidivtherapie [67].

Diskussionen werden seit langem über den Nutzen einer neoadjuvanten Chemotherapie (Abk. NACT) geführt. Primäres Ziel einer NACT ist die präoperative Zytoreduktion, um in der im Intervall durchgeführten Operation eine makroskopisch vollständige Tumorresektion zu erreichen. Bislang konnte in qualitativ hochwertigen Studien kein Vorteil der NACT im

Vergleich zur standardmäßig durchgeführten Primäroperation im Hinblick auf eine Verlängerung des Gesamtüberlebens festgestellt werden. So zum Beispiel in der Studie von Vergote et al. der European Organisation for Research and Treatment of Cancer, die beide Therapieoptionen anhand von 670 Patientinnen mit fortgeschrittenen Ovarialkarzinomen verglichen [76]. In einem ausführlichen Review von insgesamt vier randomisierten, kontrollierten Studien stellten die Society of Gynecologic Oncology und die American Society of Clinical Oncology fest, dass für bestimmte Patientinnen eine NACT sinnvoll sein kann bei geringerer perioperativer Morbidität und Mortalität. Im Konsens wurden durch die beiden Gesellschaften Richtlinien für den Einsatz einer NACT bei Ovarialkarzinompatientinnen erstellt [77]:

- 1) Alle Patientinnen mit erwartetem FIGO-Stadium IIIC oder IV sollen vor Therapiebeginn einem Gynäkoonkologen vorgestellt werden, um ihre Tauglichkeit für eine operative Primärtherapie zu evaluieren.
- 2) Eine NACT wird Patientinnen mit hohem perioperativem Risiko empfohlen und solchen, bei denen operativ eher kein Tumorrest < 1cm erreicht werden kann.
- 3) Bei allen anderen Patientinnen sind beide Therapieoptionen möglich und abzuwägen.

In der aktuellen AWMF-Leitlinie wird eine NACT aufgrund bislang unzureichender Datenlage bei deutlichen methodischen Schwächen in einigen Studien ausdrücklich nicht empfohlen [67]. In der derzeit laufenden AGO-TRUST-Studie (geplantes Studienende 2023) wird das Gesamtüberleben von Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom nach Randomisierung in eine NACT- sowie eine Standard-Gruppe (Primäroperation mit adjuvanter CTx) miteinander verglichen [78].

In Anbetracht der Tatsache, dass das Ovarialkarzinom zur Metastasierung in die Peritonealhöhle neigt, erscheint eine intraperitoneale Applikation von Chemotherapeutika auf den ersten Blick sinnvoll. Insgesamt sieben randomisierte Phase-III-Studien wurden bislang zur Anwendbarkeit einer intraperitonealen CTx durchgeführt. Nur drei der Studien lieferten Hinweise auf eine Verbesserung des Outcomes der Patientinnen unter Durchführung einer intraperitonealen CTx bei hoher Toxizität, sodass sie leitliniengemäß nicht empfohlen wird [67, 79].

Von Interesse ist seit einiger Zeit auch die Option einer hyperthermen intraoperativen intraperitonealen Chemotherapie (Abk. HIPEC) [80]. Hierbei wird das Abdomen nach erfolgter Tumorresektion mit einer erwärmten Zytostatikallösung gespült. Bislang wird die Durchführung einer HIPEC aufgrund der unzureichenden Datenlage außerhalb von klinischen Studien noch nicht empfohlen, so auch in einem ausführlichen Statement von Harter et al. aus dem Jahr 2016 [4, 67, 81]. Van Driel et al. publizierten 2018 im New England Journal of Medicine die Ergebnisse einer klinischen Phase-III-Studie zur

hyperthermen intraperitonealen CTx nach erfolgter NACT bei Patientinnen im FIGO-Stadium III: Sowohl das rezidivfreie Überleben als auch das Gesamtüberleben waren bei gleicher Nebenwirkungsrate signifikant verlängert [82]. Weitere Studien werden zur Überprüfung der Anwendbarkeit und Wirksamkeit von NACT und HIPEC folgen müssen.

Analog zu anderen onkologischen Erkrankungen wurde der Fokus in den letzten Jahrzehnten auch beim Ovarialkarzinom auf die Etablierung personalisierter, zielgerichteter Therapien („targeted therapy“) gelegt.

Inspiziert durch seinen Einsatz in der Therapie von Colon-, Mamma- und kleinzelligen Bronchialkarzinomen wurden diverse Studien zur Wirksamkeit des Vascular-Endothelial-Growth-Factor-Antikörpers (Abk. VEGF-AK) Bevacizumab (Handelsname Avastin) in Bezug auf eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens (Abk. PFS – progression free survival) durchgeführt. Bevacizumab hemmt den Angiogenesefaktor VEGF und somit die für das Tumorüberleben essenzielle Vaskularisierung. Verschiedene Phase-III-Studien untersuchten in den letzten Jahren die Wirksamkeit und Anwendbarkeit von Bevacizumab. Zu betonen sind hier insbesondere zwei Studien zur Wirksamkeit im Rahmen der Primärtherapie. Burger et al. beobachteten in ihrer doppelblinden, kontrollierten, randomisierten Studie für die GOG an 1873 Patientinnen mit FIGO-Stadium-III- und IV-Karzinomen eine signifikante Verlängerung des PFS durch eine adjuvante Bevacizumab-Therapie im Vergleich zur alleinigen CTx nach üblichem Schema [83]. Dieses Ergebnis konnte durch die ebenfalls im New England Journal of Medicine veröffentlichte ICON7-Studie an 1528 Patientinnen mit halbiertem Bevacizumab-Dosis bestätigt werden. Das Gesamtüberleben bezogen auf alle Patientinnen wurde durch Bevacizumab zwar nicht verbessert, in der Subgruppe der Hochrisikopatientinnen für eine Tumorprogression wurde es jedoch signifikant verlängert [84].

Im Hinblick auf den Einsatz von Bevacizumab in der Rezidivtherapie sind ebenfalls zwei große Phase-III-Studien zu erwähnen. Die AURELIA-Studie zeigte eine signifikante Verlängerung des PFS bei Patientinnen mit rezidierten, Platin-resistenten Ovarialkarzinomen, die zusätzlich zur Mono-CTx (Doxorubicin, Paclitaxel, Topotecan) Bevacizumab erhielten [85]. Analog dazu konnte durch die OCEANS-Studie eine Verlängerung des PFS durch Hinzugabe von Bevacizumab zur CTx mit Gemcitabin und Carboplatin bei Patientinnen mit rezidierten, platinsensitiven Ovarialkarzinomen beobachtet werden, das Gesamtüberleben wurde nicht signifikant verlängert [86, 87].

Die häufigsten Nebenwirkungen, die unter Therapie mit Bevacizumab beobachtet werden, sind die arterielle Hypertonie, Thromboembolien, gastrointestinale Perforationen und



Proteinurie. Prozentuale Angaben zur Häufigkeit des Auftretens der Nebenwirkungen sind aufgrund der unterschiedlichen Kombinationen mit verschiedenen Chemotherapeutika sowie unterschiedlicher Dosierung von Bevacizumab kaum zu machen. Die Rate an unerwünschten Nebenwirkungen wird jedoch als akzeptabel eingestuft [88]. Die aktuellen Empfehlungen zum Einsatz von Bevacizumab können Tabelle 7 entnommen werden.

Krankheitsstadium	Empfehlung
Primärtherapie frühes Ovarialkarzinom	adjuvante Bevacizumab-Therapie nicht empfohlen
Primärtherapie fortgeschrittenes Ovarialkarzinom (FIGO IIIB-IV)	adjuvante Bevacizumab-Therapie kann erwogen werden
Rezidivtherapie platingeeignete Ovarialkarzinome	adjuvante Bevacizumab-Therapie kann in Kombination mit Carboplatin/Gemcitabin in Betracht gezogen werden; Voraussetzung: erstes Rezidiv, keine vorherige VEGF-gerichtete Therapie  (seit 2017 zugelassen in Kombination mit Carboplatin/Paclitaxel, noch nicht in Leitlinie integriert)
Rezidivtherapie nicht-platingeeignete Ovarialkarzinome	adjuvante Bevacizumab-Therapie kann in Kombination mit Paclitaxel, Topotecan oder pegyliertem liposomalem Doxorubicin angewendet werden

*Tabelle 7 Empfehlungen der aktuellen S3-Leitlinie zum Einsatz von Bevacizumab, Empfehlungsgrad 0 (Stand 02/2018) [67]*

Abgesehen von Bevacizumab gab es lange Zeit keine weiteren zugelassenen Medikamente für die zielgerichtete Therapie. Das vielversprechende Oregomovab, ein monoklonaler Antikörper gegen CA125, konnte in klinischen Studien keinen Überlebensvorteil bieten [89]. In der Gruppe der Angiogeneseinhibitoren konnte mit Pazopanib zum ersten Mal ein Tyrosinkinaseinhibitor in einer Phase-III-Studie eine Verbesserung des PFS bewirken [90]. Der Tyrosinkinaseinhibitor Nintedanib, konnte in einer weiteren randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Phase-III-Studie ebenfalls eine Verlängerung des PFS im Vergleich zur Placebo-Gruppe erreichen bei jedoch hoher Nebenwirkungsrate [91].

Einen Meilenstein in der zielgerichteten Therapie des Ovarialkarzinoms könnte die Zulassung von Poly-ADP-ribose-Polymerase-Inhibitoren (Abk. PARP-Inhibitor) darstellen.

Die Erstzulassung von Olaparib erfolgte im Dezember 2014, es folgte 2017 die Zulassung für Niraparib, Rucaparib ist seit 2016 in den USA zugelassen, die EU-Marktzulassung ist beantragt [92]. Das Enzym PARP spielt eine entscheidende Rolle in der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen. Wird dieses Enzym durch einen Arzneistoff wie Olaparib inhibiert, so können sich während der Replikationsvorgänge Doppelstrangbrüche bilden, die in BRCA1- und BRCA2-mutierten Tumorzellen nicht repariert werden können, da die Produkte der Gene BRCA1 und BRCA2 für die Reparatur von Doppelstrangbrüchen notwendig sind. Hierdurch wird der Zelltod der Tumorzellen eingeleitet. Das PFS von BRCA-Mutationsträgerinnen konnte durch die Einnahme von Olaparib sowohl in der Zulassungsstudie als auch in der laufenden klinischen Phase-III-Studie (SOLO2) signifikant verlängert werden [93-96]. Zugelassen ist Olaparib bislang nur zur Behandlung von Rezidiven platin sensitiver, high-grade seröser, BRCA-mutierter Ovarialkarzinome. Niraparib ist der erste zugelassene orale PARP-Inhibitor, der unabhängig vom BRCA-Status der Patientin in der Erhaltungstherapie von Rezidiven platin sensitiver, gering differenzierter, seröser Ovarialkarzinome eingesetzt werden kann [97]. In der groß angelegten Phase-III-Studie (NOVA) wurde die Wirksamkeit von Niraparib bei Rezidiven platin sensitiver Ovarialkarzinome getestet. 553 Patientinnen waren in die Studie inkludiert und wurden in drei Gruppen unterteilt: BRCA-Mutation vorhanden, BRCA-Mutation nicht vorhanden mit homologer rekombinanter DNA-Reparatur-Defizienz, BRCA-Mutation nicht vorhanden ohne homologe rekombinante DNA-Reparatur-Defizienz. In allen drei Gruppen, folglich auch bei BRCA-negativen Patientinnen, konnte Niraparib das PFS im Vergleich zum Placebo-Arm hochsignifikant verlängern bei moderater Knochenmarkstoxizität [98]. Dies könnte die Zahl derer Patientinnen, die vom Einsatz der PARP-Inhibitoren profitieren könnten, immens vergrößern. Seit 2016 wird in der PRIMA-Studie die Wirksamkeit von Niraparib in der Erhaltungstherapie bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom nach Ansprechen auf eine platinhaltige Erstlinienchemotherapie untersucht, die Ergebnisse sind noch ausstehend [99]. In der aktuellen AWMF-Leitlinie ist die Stellungnahme zum Einsatz von Niraparib bislang offen (Stand 02/2018). Rucaparib wurde in den USA zur Therapie BRCA-positiver Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom und Zustand nach mindestens zwei CTx zugelassen, in der EU ist das Medikament noch nicht zugelassen [92]. In der ARIEL3-Studie konnte eine Verlängerung des PFS durch den therapeutischen Einsatz von Rucaparib bei Patientinnen mit Rezidiven platin sensitiver Ovarialkarzinome nach erfolgter platinhaltiger CTx gezeigt werden, dies betraf sowohl Patientinnen mit als auch ohne BRCA-Mutation und homologer rekombinanter DNA-Reparatur-Defizienz [100].

Im Gegensatz zu Mammakarzinomen ist die endokrine Therapie bzw. Antihormontherapie (Abk. AHT) bislang kein standardmäßig eingesetztes Modul in der Therapie des Ovarialkarzinoms. Die Ansprechrate auf eine anti-östrogene Therapie mit selektiven

Östrogenrezeptormodulatoren (Abk. SERMs) wie Tamoxifen bei Patientinnen mit persistierendem oder rezidiviertem Karzinom ist sehr gering (18%) und ist am höchsten bei Östrogenrezeptor-positiven Tumoren; die Nebenwirkungshäufigkeit ist akzeptabel [101]. 2017 wurden die Ergebnisse der ersten randomisierten Phase-III-Studie (Ovaresist) zur Wirksamkeit einer endokrinen Therapie mit Tamoxifen im Vergleich zur CTx (Paclitaxel wöchentlich / pegyliertes liposomales Doxorubicin im vierwöchigen Intervall) bei platinresistenten Rezidiven publiziert. Zwar war das PFS in der CTx-Gruppe signifikant länger als in der Tamoxifen-Gruppe, jedoch ging dies mit einer erhöhten Nebenwirkungsrate und einer geringeren gesundheitsbezogenen Lebensqualität einher, es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben [102]. Insbesondere vor dem Hintergrund, dass das primäre therapeutische Ziel bei nicht-platingeeigneten Rezidiven der Erhalt der Lebensqualität ist, könnte die endokrine Therapie mit Tamoxifen bei gleichem Gesamtüberleben eine zu erwägende Therapieoption darstellen.

Ähnliches gilt für die Therapie mit Aromatase-Inhibitoren (Abk. Als). Als blockieren die Östrogen-Bildung aus Androgenen und durch ihre Einnahme erreichten 17% der Östrogenrezeptor-positiven Patientinnen einer klinischen Phase-II-Studie eine Tumorabnahme über 50%, bei weiteren 26% stagnierte die Tumorprogression [103]. Gonadotropin-Releasing-Hormon-Analoga (Abk. GnRH-Analoga) wie Goserelin führen durch die kontinuierliche Stimulation der Hypophyse zu einer gehemmten Freisetzung von FSH und LH und somit zu einer geringeren Produktion von Östrogenen und Gestagenen. Der Einsatz der GnRH-Analoga erbrachte in Studien ähnliche Ergebnisse wie Als und SERMs, obwohl auch hier meist unselektierte Patientengruppen Gegenstand der Studien waren [104].

Gershenson et al. führten eine retrospektive Analyse an Patientinnen mit LGSCs (FIGO-Stadium II-IV) nach erfolgter Primäroperation und adjuvanter platinhaltiger CTx durch. Sie verglichen das Outcome der Patientinnen, die entweder lediglich unter regelmäßiger klinischer Beobachtung standen oder eine endokrine Therapie mit Tamoxifen, Letrozol, Anastrozol, Leuprorelin, Medroxyprogesteronacetat oder Kombinationen dieser Medikamente erhielten. Die Patientinnen des Therapie-Arms hatten im Vergleich zur Kontrollgruppe ein signifikant längeres PFS und Gesamtüberleben, insbesondere bei positivem Östrogenrezeptor-Status [105]. Aufgrund ihrer eingeschränkten Platinsensibilität sind neue therapeutische Optionen insbesondere für LGSCs dringend notwendig. Ob eines der gewählten Medikamente in der Studie einen signifikanten Vorteil im Vergleich zu den anderen bietet, bleibt bislang unklar. Das Ansprechen auf die endokrine Therapie hängt vermutlich von vielen Faktoren ab wie beispielsweise dem histologischen Subtyp, dem Östrogenrezeptorstatus und dem Grading [105]. Paleari et al. zeigten in ihrem umfassenden

Review, dass eine endokrine Therapie die Mortalität von Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom senken kann [106].

Ein Manko vieler Arbeiten, die sich mit der Wirksamkeit endokriner Therapien beschäftigen, ist, dass Angaben zur Expression relevanter Rezeptoren wie beispielsweise Östrogen- und Progesteronrezeptoren fehlen, sodass keine Aussagen über mögliche Kriterien für ein Ansprechen auf die Therapie getroffen werden können [107]. Es bedarf kontrollierter, randomisierter Studien zur weiteren Investigation der Wirksamkeit endokriner Therapien. Die vorliegende Dissertation untersucht an einem großen Kollektiv die Bedeutung unterschiedlicher Rezeptorexpressionen auf das Outcome der Patientinnen.

In der Therapie des Mamma- und Magenkarzinoms hat sich bereits vor einigen Jahren der Einsatz des Antikörpers Trastuzumab gegen den human epidermal growth factor receptor 2 (Abk. Her2/neu; auch erb-B2 genannt), Handelsname Herceptin, etabliert. Auch der verwandte Antikörper Pertuzumab ist als Vertreter der Her2/neu-Antikörper zu nennen. Pertuzumab inhibiert die Dimerisation von Her2/neu mit weiteren Rezeptoren der Her-Familie, insbesondere Her3. Hierdurch werden wichtige Signalwege blockiert. Aktuell werden diese Antikörper in der Therapie des Ovarialkarzinoms nicht angewandt. Bookman et al. wiesen 2003 in ihrer GOG-Phase-II-Studie an Patientinnen mit rezidiertem oder persistierendem Ovarialkarzinom mit Überexpression von Her2/neu darauf hin, dass die therapeutische Wirksamkeit einer anti-Her2/neu-Therapie durch zwei Faktoren eingeschränkt sein könnte: Erstens durch den geringen prozentualen Anteil Her2/neu-überexprimierender Ovarialkarzinome und zweitens durch ihre geringen Ansprechraten (7,3%) [108]. Auch die Hinzugabe von Pertuzumab zu einer platinhaltigen CTx bei Rezidiven platin sensitiver Ovarialkarzinome führte in einer randomisierten Phase-II-Studie an 149 Patientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe (alleinige platinhaltige CTx) zu keiner signifikanten Verlängerung des PFS [109]. Hingegen gab es einen Trend hin zu einer Verlängerung des PFS durch Hinzugabe von Pertuzumab zu Gemcitabin bei Rezidiven platinresistenter Ovarialkarzinome ( $p=0,07$ ), insbesondere bei Patientinnen mit niedriger Her3-mRNA-Expression [110]. In der PENELOPE-Studie, einer zweiteiligen, randomisierten, Placebo-kontrollierten Phase-III-Studie, wurde zum einen die Sicherheit von Pertuzumab und zum anderen die Wirksamkeit von Pertuzumab in Kombination mit einer CTx bei Rezidiven platinresistenter Ovarialkarzinome mit niedriger Her3-mRNA-Expression untersucht. Die Nebenwirkungsrate war tolerabel, es zeigte sich jedoch nur ein geringer, nicht-signifikanter Trend hin zu einer Verlängerung des PFS im Pertuzumab-Arm [111, 112]. Sowohl die Anwendbarkeit von Trastuzumab als auch von Pertuzumab ist Gegenstand weiterer klinischer Studien.

Eine optimale Betreuung von Patientinnen mit Ovarialkarzinomen beinhaltet selbstverständlich auch eine adäquate Nachsorge sowie Behandlung von therapieinduzierten Nebenwirkungen. Zur Nachsorge kann neben der Rehabilitation, psychosozialen Betreuung und regelmäßigen Nachsorgeuntersuchungen zur rechtzeitigen Rezidiventdeckung auch der Einsatz einer adjuvanten Hormontherapie gehören. Insbesondere Frauen, die zum Zeitpunkt der Diagnosestellung prämenopausal sind, erfahren durch die operative Radikaltherapie einen jähen hormonellen Wechsel in den postmenopausalen Zustand mit den damit verbundenen gesundheitlichen Risiken wie Osteoporose und einer nicht zu unterschätzenden psychischen Belastung. Im klinischen Alltag herrscht weiterhin Unsicherheit, ob eine adjuvante Hormontherapie aufgrund von Hormonrezeptoren auf der Oberfläche des Karzinoms zur Progression oder zum Rezidiv der Krankheit führen könnte. Eeles et al. publizierten 2015 die Ergebnisse der bislang größten randomisierten Studie zur Sicherheit einer adjuvanten Hormontherapie. Überraschenderweise konnten sie anhand eines Kollektivs von 150 Patientinnen zeigen, dass der Einsatz einer adjuvanten Hormontherapie neben der bekannten Verbesserung der Lebensqualität auch zu einem signifikant besseren Gesamtüberleben in der Interventionsgruppe führte ( $p=0,011$ ) [113]. Aktuell kann nach Leitlinie die adjuvante Hormontherapie bei postmenopausalen Frauen angeboten werden [67].

### **1.2.8.4 Prognosefaktoren**

Der bedeutendste Prognosefaktor für das Gesamtüberleben der Patientinnen ist die TNM-Stadien-Einteilung bzw. das FIGO-Stadium [4]. 80-90% der Patientinnen mit FIGO-Stadium I leben nach 5 Jahren noch. Hingegen beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate im FIGO-Stadium II 25-60% und im FIGO-Stadium IV 11-20%. Von großer Bedeutung für die Prognose sind ebenso der histologische Subtyp, die Tumorgraduierung sowie der postoperative Tumorrest, wobei die Patientinnen von einer makroskopischen Tumorfreiheit am stärksten profitieren. Ob der Tumorrest jedoch 1 bis 10mm (optimales Tumordebulking) oder sogar über 10mm groß ist, hat geringere Auswirkungen auf das OS. Des Weiteren sind prognostisch entscheidend das Alter der Patientin und der Performance Status<sup>e</sup> [4, 10, 114].

---

<sup>e</sup> Der Performance-Status beschreibt das allgemeine Wohlbefinden von Krebspatienten und bewertet den Grad ihrer Einschränkung bei alltäglichen Aktivitäten. Verwendet werden der Karnofsky-Index und der WHO/ECOG Performance Status.

### 1.3 Rezeptoren

#### 1.3.1 Rezeptorexpression bei Malignomen

Der Informationsaustausch zwischen den mannigfaltigen Zellen des Körpers wird durch die Interaktion zwischen Botenstoffen und den zellgebundenen Rezeptormolekülen gewährleistet. Mit Hilfe des sogenannten Schlüssel-Schloss-Prinzips kann die Signaltransduktion von in die Blutbahn geschwemmten Hormonen und Wachstumsfaktoren auf die Zelle stattfinden. Hierdurch können beispielsweise Stoffwechselprozesse in der Zelle reguliert oder die Transkription von Genen gesteuert werden. Unterschieden werden membrangebundene und intrazelluläre Rezeptoren, die sich verschiedener Signalkaskaden bedienen. Diverse Rezeptoren fungieren bei bestimmten Tumoren als Ziel der gezielten Krebstherapie (engl. targeted therapy) und der AHT.

#### 1.3.2 Östrogenrezeptoren: ER und GPER

Östrogene spielen nicht nur eine essentielle Rolle in der Entwicklung und Funktionstüchtigkeit der weiblichen Reproduktionsorgane. Sie sind an vielen lebenswichtigen physiologischen Prozessen im Körper beteiligt. Östrogene sind unter anderem die wichtigsten Regulatoren der Knochen-Homöostase, was im Verlust der Knochendichte während der Menopause ersichtlich wird [115], sind beteiligt an der Aufrechterhaltung einer gesunden Haut [116], eines gesunden Gefäßsystems [117] und wirken neuroprotektiv [118].

Es gibt verschiedene Östrogenrezeptoren (Abk. ER): Die Rezeptoren ER $\alpha$ , ER $\beta$  und der G protein-coupled estrogen receptor (Abk. GPER/GPR30) sind die wichtigsten und werden hier beschrieben. Des Weiteren sind sogenannte estrogen-related receptors (Abk. ERR) bekannt.

ER $\alpha$  und ER $\beta$  sind klassische nukleäre Steroidhormonrezeptoren, die im Ruhezustand im Zytoplasma zu finden sind, bei Bindung ihres Liganden dimerisieren und in diesem Zustand in den Nukleus translozieren. Dort fungieren sie als Transkriptionsfaktoren, indem sie an Promotor-Regionen ihrer Zielgene binden. Indirekt beeinflusst der Östrogen-Rezeptor-Komplex die Transkription weiterer Gene durch Bindung an andere Transkriptionsfaktoren [119].

ER $\alpha$  gilt heute als potentieller Faktor in der Genese des Ovarialkarzinoms. In in-vitro-Studien zeigte sich die Bindung von Östrogen an ER $\alpha$  als wachstumsstimulierend für Ovarialkarzinome [120]. In anderen Studien hingegen galt die Expression von ER $\alpha$  als prognostisch günstig [121, 122]. Die genaue Rolle von ER $\alpha$  in der Tumorgenese und Progression des Ovarialkarzinoms und die damit verbundenen potentiellen therapeutischen Interventionsmöglichkeiten bleiben folglich ungeklärt.

ER $\beta$  gilt in den meisten Studien als proliferationssuppressiv und damit prognostisch günstig [123]. Die ER $\beta$ -Expression ist in Ovarialkarzinomzellen geringer als in gesunden Zellen des Ovars, was ein Grund für die Entwicklung des Ovarialkarzinoms sein könnte [124]. Die ER $\alpha$ /ER $\beta$ -Ratio verschiebt sich im Laufe der Tumorgenese zu Gunsten des ER $\alpha$  [125].

Eine Studie an einer Ovarialkarzinomzelllinie ergab, dass die Gabe von selektiven ER $\alpha$ /ER $\beta$ -Agonisten/Antagonisten das Zellwachstum unterschiedlich beeinflusste. ER $\alpha$ -Agonisten und ER $\beta$ -Antagonisten verstärkten das Zellwachstum, während ER $\alpha$ -Antagonisten und ER $\beta$ -Agonisten das Zellwachstum bremsten [126].

Im Rahmen dieser Dissertation wurde lediglich die Expression von ER $\alpha$  untersucht.

Der Transkriptionsprozess bedarf einiger Zeit. Deshalb können viele der schnellen, nicht-genomischen Effekte von Östrogenen nicht durch die Bindung an ERs erklärt werden. Im Jahr 1997 entdeckten Carmeci et al. einen membranständigen Östrogen-Rezeptor, der in seiner Struktur anderen G Protein-gekoppelten Rezeptoren ähnelte und der einen ersten Ansatz zur Erklärung der nicht-genomischen Effekte von Östrogenen darstellte [127]. Viele Aspekte dieses Rezeptors werden kontrovers diskutiert. Uneinigkeit bestand lange Zeit über seinen Ursprung: Auf der einen Seite wurde behauptet es handle sich um ER $\alpha$ , der in die Plasmamembran transloziert sei, auf der anderen Seite ging man von einem eigenständigen, unabhängigen Rezeptor aus, der permanent in der Plasmamembran zu finden ist [128].

Mittlerweile wird eher zur These des eigenständigen Rezeptors tendiert. Kontrovers diskutiert wurde auch die zelluläre Lage des Rezeptors. Statuiert wurde seine Lage sowohl in der Plasmamembran als auch intrazellulär im endoplasmatischen Retikulum [129]. Cheng et al. zeigten, dass GPER sowohl in der Plasmamembran als auch in einem perinukleären Kompartiment vorhanden ist [130].

Filardo et al. beobachteten, dass das Östrogen über die Bindung an GPER und über eine Transaktivierung des epidermal growth factor receptor (Abk. EGFR) Extracellular-signal Regulated Kinases (Abk. ERK) aktiviert, die zu den MAP-Kinasen gehören und wichtige Funktionen bei der Zellproliferation und -differenzierung inne haben [131, 132]. Des Weiteren induziert GPER die Bildung von cyclischem Adenosinmonophosphat [133]. Viele andere Signalwege werden ebenfalls von GPER aktiviert [134].

Die Datenlage zu den Auswirkungen einer vermehrten GPER-Expression in Ovarialkarzinomen ist sehr kontrovers: Auf der einen Seite statuierten einige Autoren, dass GPER ein negativer Prädiktor für Ovarialkarzinompatientinnen sei [135-137], andere Autoren fanden keine signifikanten Auswirkungen auf das Überleben der Patientinnen [138] und wiederum andere publizierten, dass in ihrem untersuchten Kollektiv die Expression von GPER mit einem besseren Überleben der Patientinnen korrelierte und GPER als

Tumorsuppressor fungieren könnte [139]. Yan et al. zeigten in ihrer Studie, dass GPER die Migration und Invasion von Ovarialkarzinomzellen reguliert und damit ein wichtiger Parameter im Prozess der Metastasierung sein könnte [137].

### 1.3.3 Progesteron-Rezeptor

Progesteron spielt als Steroidhormon eine essentielle Rolle in der Entwicklung und Differenzierung der weiblichen Brust und des Reproduktionstrakts. Im Verlauf der zweiten Hälfte des Menstruationszyklus wird es vom Corpus luteum in den Ovarien gebildet, in geringen Mengen auch von den Nebennieren. Während der Schwangerschaft hingegen wird es hochkonzentriert von der Plazenta produziert.

Der Transduktionsmechanismus des Progesteronrezeptors (Abk. PR) verläuft analog zu dem oben nachzulesenden Mechanismus von  $ER\alpha$  und  $ER\beta$  [140].

Es gibt drei Isoformen des PRs: PR-A, PR-B und der kleinere PR-C. Die beiden Rezeptoren PR-A und PR-B teilen sich ein gemeinsames Gen. Der Promoter, an welchem die Transkription beginnt, und der Translationsstartpunkt an zwei unterschiedlichen AUG-Startsignalen entscheiden darüber, welche der beiden Isoformen exprimiert wird [141]. Conneeley et al. fassten in ihrem Review zusammen, dass das Verhältnis der exprimierten Isoformen abhängig vom hormonellen und Wachstumsstatus sowie dem Verlauf der Karzinogenese ist [142]. Die Isoform PR-C kann nicht an DNS binden und könnte die Bindungsfähigkeit an Liganden der beiden anderen Rezeptoren beeinflussen [140]. Während PR-B der entscheidende Rezeptor für die Entwicklung der Mamma ist, gilt PR-A als essentiell für die Entwicklung des Uterus und die Aufrechterhaltung der Reproduktionsfunktionen [142]. Die PR-Expression wird durch  $ER\alpha$  induziert [143]. Folglich gilt Progesteron vor allem im Zusammenhang mit Mammakarzinomen als Indikator für einen intakten  $ER\alpha$ -Signalweg; neben einem nicht-intakten  $ER\alpha$ -Signalweg werden als weitere Gründe für eine verminderte PR-Expression die Hypermethylierung von Promotoren des PR-Gens sowie Wachstumsfaktorsignalkaskaden, die die PR-Expression herunterregulieren, diskutiert [144]. Im klinischen Alltag und auch im Rahmen dieser Dissertation wurde ein Antikörper anti-PR verwendet, der nicht zwischen den beiden Isoformen des Progesteronrezeptors unterscheidet.

Hohe Progesteron-Spiegel sollen einen protektiven Effekt auf die Entstehung eines Ovarialkarzinoms haben. So wurde bereits beschrieben, dass Schwangerschaften und die längerfristige Einnahme oraler, Progesteron-haltiger Kontrazeptiva das Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, senken [40, 42]. Multiple Studien lieferten Hinweise darauf,



dass PR prognostisch günstige Auswirkungen auf die Überlebensrate haben könnte [145, 146].

In Bezug auf mögliche Therapieoptionen ist die Datenlage kontrovers. Diverse Studien ergaben, dass Progesteron die Chemotherapie-induzierte Apoptose verstärkt, während andere Studien gegenteilige Ergebnisse lieferten [107]. Eine Progesteron-basierte Therapie ist folglich noch nicht etabliert. Diese Dissertation analysierte die Expression von PR in Zusammenschau mit anderen Rezeptoren, um weitere Evidenz für oder gegen eine zielgerichtete Therapie mit dem Fokus auf dem PR zu erlangen.

### **1.3.4 Follikelstimulierender-Hormon-Rezeptor und Luteinisierender-Hormon-Rezeptor**

Entscheidend für die Entwicklung und den Funktionserhalt der weiblichen Reproduktionsorgane ist die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse. Der Hypothalamus bildet Releasing- und Inhibiting-Hormone, die die Hormonausschüttung in der Adenohypophyse (Hypophysenvorderlappen) steuern. Wichtig für die Produktion der Sexualhormone ist hier das Gonadoliberin. In der Adenohypophyse werden unter anderem die Gonadotropine Follikelstimulierendes Hormon (Abk. FSH) und Luteinisierendes Hormon (Abk. LH) gebildet. Diese werden in das Kreislaufsystem abgegeben und regulieren die Hormonproduktion in den Ovarien. Durch Rückkopplungsmechanismen wird die Ausschüttung des Gonadoliberins beeinflusst.

Die Gonadotropine FSH und LH gelten als Einflussfaktoren in der Entstehung des Ovarialkarzinoms. Postmenopausal lassen sich sehr hohe Gonadotropin-Spiegel nachweisen, was unter anderem auf die fehlende negative Rückkopplung durch Östrogene und Gestagene zurückgeführt werden kann [147]. Diese hormonelle Überstimulation durch Gonadotropine könnte ein Grund für die erhöhte Inzidenz des Ovarialkarzinoms bei postmenopausalen Frauen sein.

Die Gonadotropine binden an den FSH-Rezeptor (Abk. FSHR) und den LH-Rezeptor (Abk. LHR). Beides sind G Protein-gekoppelte heptahelikale Transmembranrezeptoren (Abk. G Protein-coupled receptors, GPCR), die vorrangig in Theka- und Granulosazellen der Ovarien exprimiert werden. Die Effekte der Ligandenbindung an FSHR und LHR werden unter anderem durch eine Aktivierung der Proteinkinasen A und C sowie der Phosphoinositid-3-Kinase (Abk. PI3K) und der konsekutiven Hochregulierung von VEGF vermittelt [148].

Die genauen biologischen Auswirkungen der Gonadotropine auf gesunde und entartete Ovarialzellen werden kontrovers diskutiert. Erhöhte Spiegel von Gonadotropinen konnten in der Peritonealflüssigkeit von an Ovarialkarzinomen erkrankten Frauen im Vergleich zu

gesunden Frauen gefunden werden [149]. Mit steigendem Tumorgrading sinkt die Gonadotropinrezeptor-Expression in Ovarialkarzinomzellen [150]. Die Mehrzahl der Publikationen beschreibt einen positiven Einfluss der Gonadotropine auf die Proliferation und das Wachstum des Tumors [148, 151-154] sowie dessen Metastasierung [155]. Hohe FSHR-Level sollen vor allen Dingen in den Anfangsphasen der Tumorentwicklung eine Rolle spielen [154, 156].

Wenige Publikationen sprechen von gegensinnigen Effekten von LH und FSH in Bezug auf das Tumorwachstum. Zheng et al. entdeckten in ihrem Kollektiv, dass LH bei simultaner Stimulation mit FSH die wachstumsfördernden Eigenschaften des FSHs blockieren kann [150]. Lenhard et al. publizierten, dass LHR-positive Patientinnen im Vergleich zu FSHR-positiven sowie LHR-/FSHR-positiven Patientinnen bessere Überlebenszeiten aufwiesen [157].

### **1.3.5 Human epidermal growth factor receptor 2**

Der human epidermal growth factor receptor 2 (Abk. Her2/neu; auch erb-B2 genannt) ist ein transmembranöses Glykoprotein aus der Familie der epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren (ErbB-Familie) und Tyrosinkinasen. Durch Amplifikation des Gens auf Chromosom 17q12 wird das Gen zum Onkogen und Her2/neu kann in diverse Zellprozesse eingreifen [1].

Her2/neu hat eine entscheidende Position in der Entwicklung multipler maligner Erkrankungen. Es hat Einfluss auf die Differenzierung, das Zellwachstum und –überleben, die Angiogenese, die Invasion und die Proliferation und bedient sich dafür verschiedener Signaltransduktionswege. Wie bei allen Tyrosinkinasen führt die Bindung eines Liganden an die extrazelluläre Domäne des Rezeptors zur Dimerisierung und anschließender Phosphorylierung der intrazellulären Domäne. Hierdurch werden verschiedene Enzymkaskaden aktiviert. Bislang konnte kein spezifischer Ligand für Her2/neu gefunden werden [158]. Der Rezeptor könnte konstitutiv aktiviert sein oder durch Heterodimerisierung mit anderen Mitgliedern der ErbB-Familie aktiviert werden. Vorrangig aktivierte Signalwege sind die MAP-Kinase, die Phosphoinositid-3-Kinase (Abk. PI3K) und die Proteinkinase C (Abk. PKC) [159].

Her2/neu spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung von Mamma-, Magen- und weiteren Karzinomen. Die prognostische Relevanz der Her2/neu-Expression in Ovarialkarzinomen ist noch immer umstritten. Während unter anderem Berchuck et al. beobachteten, dass die Überexpression von Her2/neu in Ovarialkarzinomzellen ein signifikant schlechteres Überleben für die Patientinnen bedeutete [160], konnten Mayr et al. keine signifikanten

Korrelationen zu Überleben und histologischen Parametern aufweisen [161]. Dies sind nur zwei Beispiele für die kontroverse Datenlage [162, 163].

Die Spannweite der Angaben zur Häufigkeit der Her2/neu-Expression in Ovarialkarzinomen ist sehr weit (9-62% [164]). Unterschiedliche Detektionsverfahren wie IHC, Western-Blot und Polymerase-Ketten-Reaktion (Abk. PCR) sowie diverse etablierte Antikörper können für diese Spannweite verantwortlich sein [162, 165].

Der monoklonale Antikörper Trastuzumab (Handelsname Herceptin) wird in der Therapie des metastasierten Her2/neu-positiven Mamma- und Magenkarzinoms angewandt. Klinische Studien der GOG zeigten, dass der Stellenwert des Trastuzumabs in der Therapie des Ovarialkarzinoms begrenzt ist durch die niedrige Rate Her2/neu-überexprimierender Tumoren und das geringe Ansprechen auf den Antikörper [108].

### 1.3.6 Galektin-7

Galektine gehören zur Gruppe der tierischen Lektine, bei denen es sich um hoch-konservierte Kohlenhydrat-bindende Proteine handelt, die ubiquitär vorkommen und diverse biologische Funktionen übernehmen. Den Galektinen gemeinsam sind die sequentielle Ähnlichkeit der Kohlenhydrat-Erkennungs-Domäne und ihre Bindungsaffinität zu N-Acetylactosamin-haltigen Glykokonjugaten [166, 167]. Bis heute sind 15 Galektine bekannt, die nach der Reihenfolge ihrer Entdeckung benannt wurden, elf von ihnen werden von Säugetieren exprimiert [168]. Am besten erforscht sind bislang die Galektine 1 und 3.

1995 fanden Madsen et al. bei ihren Untersuchungen an gesunden und SV40-transformierten Keratinozyten<sup>f</sup> das Protein Galektin-7 (Abk. Gal-7), dessen Gen auf dem Chromosom 19 lag, das von normalen Keratinozyten gebildet und über einen bislang nicht bekannten, nicht-klassischen Sekretionsweg sezerniert wurde. In den transformierten Keratinozyten war es herunterreguliert. Vorrangige Lokalisationsorte waren in den Untersuchungen Areale in der Nähe von Zell-Zell-Kontakten in den oberen Epidermisschichten. Madsen et al. vermuteten erstmals, dass Gal-7 analog zu den bereits bekannten Galektinen durch die Fähigkeit der Quervernetzung verschiedener Kohlenhydratstrukturen eine entscheidende Rolle bei Zell-Zell- sowie Zell-Matrix-Interaktionen spielen könnte [169]. Gal-7 ist ubiquitär in mehrschichtigen Epithelien wie Haut, Kornea und Ösophagus zu finden [170].

---

<sup>f</sup> SV40 = Simian-Virus 40 (Affenvirus 40); das große T-Antigen induziert in Zellkulturen die maligne Transformation der Zellen

Gal-7 spielt eine essentielle Rolle bei der Wundheilung, so zum Beispiel bei den Reepithelialisierungsprozessen der Kornea [171] und des postmenstruellen Endometriums [172].

Seit der Entdeckung der Galektine wurden vor allen Dingen ihre Einflüsse auf den Zellzyklus und die Zelldifferenzierung untersucht. Gal-7 gilt als wichtiger Modulator von Apoptosevorgängen. Untersuchungen von Polyak et al. zeigten, dass Gal-7 das Produkt des p53-induced gene 1 ist, bei welchem es sich um eines der Gene handelt, die durch die Expression des Tumorsuppressors p53 induziert werden und eine pro-apoptotische Wirkung haben [173]. Diese pro-apoptotische Wirkung wird durch eine Induktion von Caspase 3 mit konsekutiver Spaltung der PARP1, einer vermehrten Freisetzung von mitochondrialem Cytochrom C sowie der Hochregulierung des JNK-Pathways, einer an der Apoptose beteiligten MAP-Kinase, erreicht [174].

Entscheidend für die Expression von Gal-7 sind auch epigenetische DNA-Methylierungen: Hypomethylierung induzierte in Lymphomzellen eine verstärkte Gal-7-Expression [175].

In Bezug auf die Karzinogenese verschiedener Tumorentitäten verhält sich Gal-7 ambivalent. Die oben geschilderten Apoptose-modulierenden Eigenschaften des Proteins lassen zunächst eine antiproliferative, tumorsupprimierende Wirkung erwarten.

Gleichzeitig konnten weitere Studien belegen, dass Gal-7 die Tumorphilisation in Kolonkarzinom-Zelllinien apoptoseunabhängig hemmt. Als Grund hierfür kam bei den Autoren die nachgewiesene reduzierte Angiogenese im Tumor in Frage [176]. Weitere antiproliferative Effekte werden diskutiert [177]. Kontrovers hierzu zeigte sich Gal-7 in anderen Studien an Mamma- [178] und Ovarialkarzinomen [179] als proliferationsfördernd und beteiligt an der Metastasierung. In der Subgruppe der aggressiven ER-/PR-negativen Mammakarzinome ist die Expression von Gal-7 hochreguliert [178]. Des Weiteren verstärkte Gal-7 in einem Mausmodell die Metastasierungstendenz von Mammakarzinomen in Lunge und Knochen [180]. Campion et al. konnten experimentell belegen, dass die Expression von Gal-7 in Mammakarzinomzellen durch ein Wechselspiel von p53 und dem Transkriptionsfaktor nuclear factor „kappa-light-chain-enhancer“ of activated B-cells (Abk. NF-κB) gesteuert wird und Gal-7 zur Resistenz gegen Apoptose induziert durch NF-κB beisteuern könnte [178]. Für einige Galektine konnte bereits ihre supprimierende Wirkung auf die CD8-T-Zell-vermittelte antitumoröse Immunantwort nachgewiesen werden [181].

Die genaue Rolle der Gal-7-Expression bei der Progression des Ovarialkarzinoms bleibt noch ungeklärt. Vor allem die Diskrepanz zwischen den molekularbiologisch erzielten Ergebnissen und den Ergebnissen aus Überlebensanalysen fordert eine weitere Investigation der Gal-7-Rolle in der Karzinogenese.

## **2 Zielsetzung der Dissertation**

Ziel der vorliegenden Dissertation war es, den Zusammenhang zwischen der Expression verschiedener Rezeptoren ( $ER\alpha$ , PR, Her2/neu, GPER, Gal-7, FSHR, LHR), der Histopathologie und dem Überleben der Ovarialkarzinompatientinnen zu untersuchen.

Im Hinblick darauf, dass das Überleben der Patientinnen mit dem häufigsten histopathologischen Subtyp, den fortgeschrittenen, serösen Karzinomen im FIGO-Stadium III stark variiert, fokussierte sich die Dissertation vorrangig auf diese Subgruppe. Die Studie versucht einen Beitrag zu einer verbesserten, personalisierteren Therapie auf der einen Seite und zuverlässigen Prognosemöglichkeiten auf der anderen Seite zu leisten.

Konkrete Fragestellungen:

- *Wie stark ist die Expression verschiedener Rezeptoren ( $ER\alpha$ , PR, Her2/neu, GPER, Gal-7, FSHR, LHR) im untersuchten Kollektiv?*
- *Gibt es eine Korrelation zwischen der Expression dieser Rezeptoren untereinander?*
- *Korreliert die Expression dieser Rezeptoren mit klinischen Parametern wie Grading, FIGO-Stadium und histologischem Subtyp?*
- *Welchen Einfluss haben verschiedene Rezeptorkombinationen auf das Überleben der Patientinnen?*
- *Hat die Expressionsstärke dieser Rezeptoren einen Einfluss auf das Überleben der Patientinnen?*
- *Unterscheiden sich die Rezeptorexpressionen einer Patientin im Primärtumor und im Rezidiv nach erfolgter Chemotherapie?*

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Patientenkollektiv

Für die vorliegende Arbeit wurden histologische Präparate von Ovarialkarzinomen von 305 Patientinnen aus dem Bestand des Pathologischen Instituts der LMU München verwendet. Die entsprechenden Informationen zu anamnestischen und klinischen Parametern wurden vom Tumorregister München zur Verfügung gestellt. Allen Patientinnen wurde in den Jahren 1985 bis 2003 ein Ovarialkarzinom diagnostiziert. Die Patientinnen waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 26 bis 87 Jahre alt. Sowohl der Mittelwert als auch der Median lagen bei 61 Jahren mit einer Standardabweichung von 11,8 Jahren (siehe Abbildung 4).

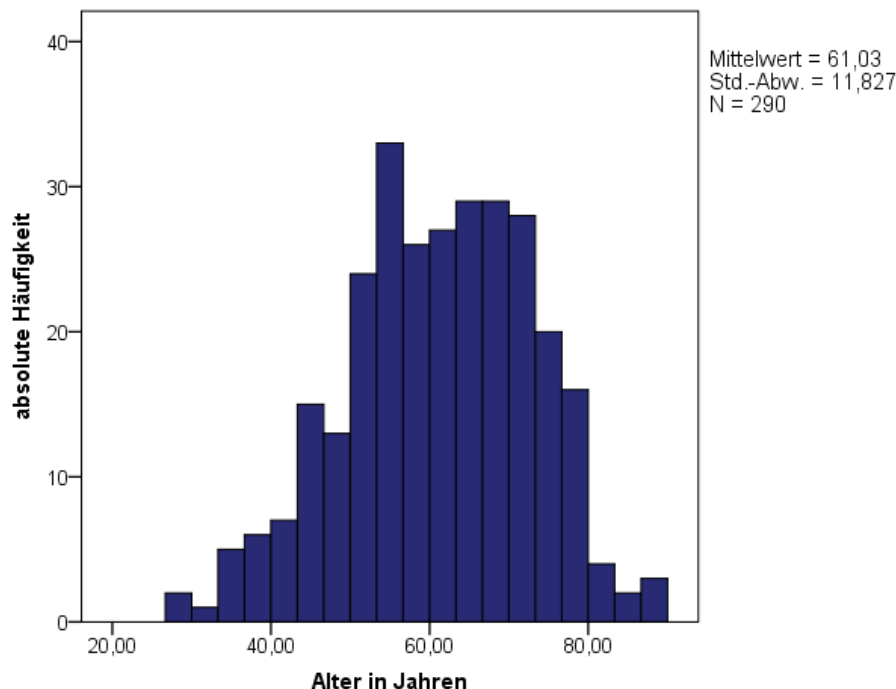


Abbildung 4 Altersverteilung des Patientenkollektivs zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Die Daten des Tumorregisters enthielten meist Angaben sowohl zum Grading als auch zum FIGO-Stadium. Lediglich bei 26 (8,5%) Patientinnen lagen keine Angaben bezüglich des Gradings und bei 18 (5,9%) Patientinnen bezüglich des FIGO-Stadiums vor. Der Großteil der Patientinnen (89,5%) wies mäßig oder schlecht differenzierte Ovarialkarzinome auf: 33,8% der Patientinnen hatten einen G2-Tumor, 55,7% der Patientinnen einen G3-Tumor. Nur bei 2,0% der Präparate handelte es sich um einen G1-Tumor (siehe Abbildung 5).

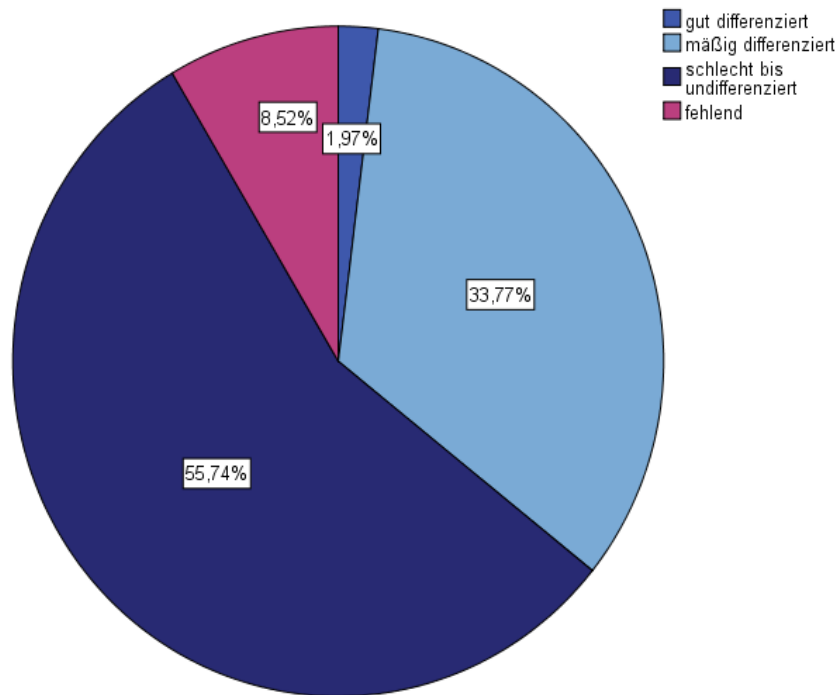


Abbildung 5 Prozentuale Verteilung der Grading-Stufen

Analog verhielt es sich mit der Verteilung des FIGO-Stadiums: 79,3% der Patientinnen hatten ein hohes FIGO-Stadium (79,0% FIGO III – entsprechend 84,0% der Patientinnen mit Angabe zum FIGO-Stadium; 0,3% FIGO IV), wohingegen nur 14,8% der Patientinnen ein FIGO-Stadium I oder II diagnostiziert bekommen hatten (siehe Abbildung 6).

Die größte histologische Gruppe stellten die serösen Karzinome dar (77,0%), gefolgt von den endometrioiden Karzinomen (8,5%). Alle weiteren histologischen Typen waren nur mit wenigen Fällen repräsentiert, siehe Tabelle 8. Für die statistische Auswertung wurden die Tumoren nach Vereinheitlichung der Nomenklatur den drei häufigsten histologischen Subtypen zugeordnet. Dies sind:

1. seröse Karzinome: papilläres Karzinom o.n.A., Adenokarzinom o.n.A., papilläres Adenokarzinom o.n.A., Zystadenokarzinom o.n.A., seröses Zystadenokarzinom, serös-papilläres Zystadenokarzinom
2. muzinöse Karzinome: muzinöses Karzinom, muzinöses Zystadenokarzinom
3. endometrioide Adenokarzinome

Alle weiteren Tumoren (solides Karzinom o.n.A., undifferenziertes Karzinom, nicht-klassifizierbares Karzinom, klarzelliges Adenokarzinom) wurden in der Gruppe „andere“ zusammengefasst. Es handelt sich somit um eine sehr heterogene Gruppe selten auftretender Ovarialkarzinome (siehe Tabelle 9).

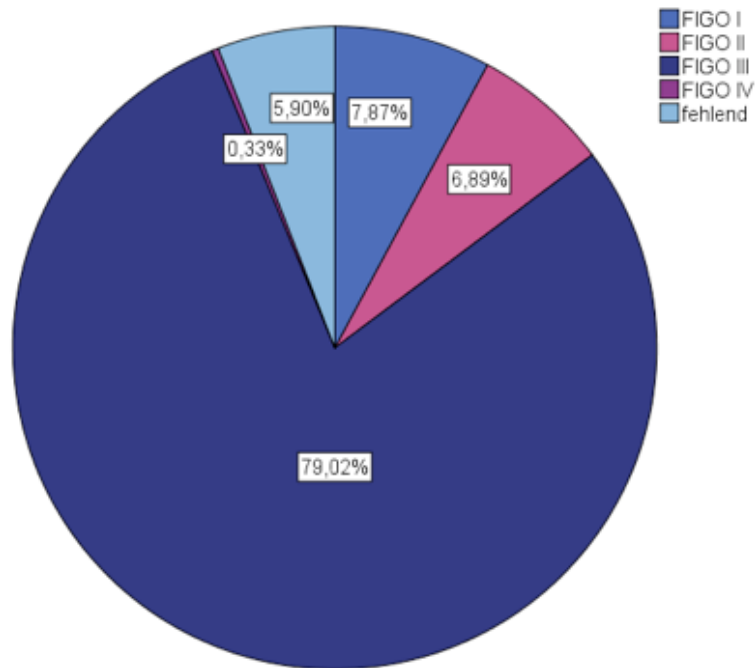


Abbildung 6 Prozentuale Verteilung der FIGO-Stadien

Histologischer Subtyp		Häufigkeit	Prozent
Gültig	nicht-klassifizierbares Karzinom	2	0,7
	undifferenziertes Karzinom	7	2,3
	papilläres Karzinom o.n.A.	1	0,3
	Adenokarzinom o.n.A.	6	2,0
	solides Karzinom o.n.A.	7	2,3
	papilläres Adenokarzinom o.n.A.	6	2,0
	klarzelliges Adenokarzinom	2	0,7
	endometrioides Adenokarzinom	26	8,5
	Zystadenokarzinom o.n.A.	1	0,3
	seröses Zystadenokarzinom	7	2,3
	serös-papilläres Zystadenokarzinom	214	70,2
	muzinöses Zystadenokarzinom	1	0,3
	muzinöses Karzinom	5	1,6
	Gesamt	285	93,4
Fehlend		20	6,6
Gesamt		305	100,0

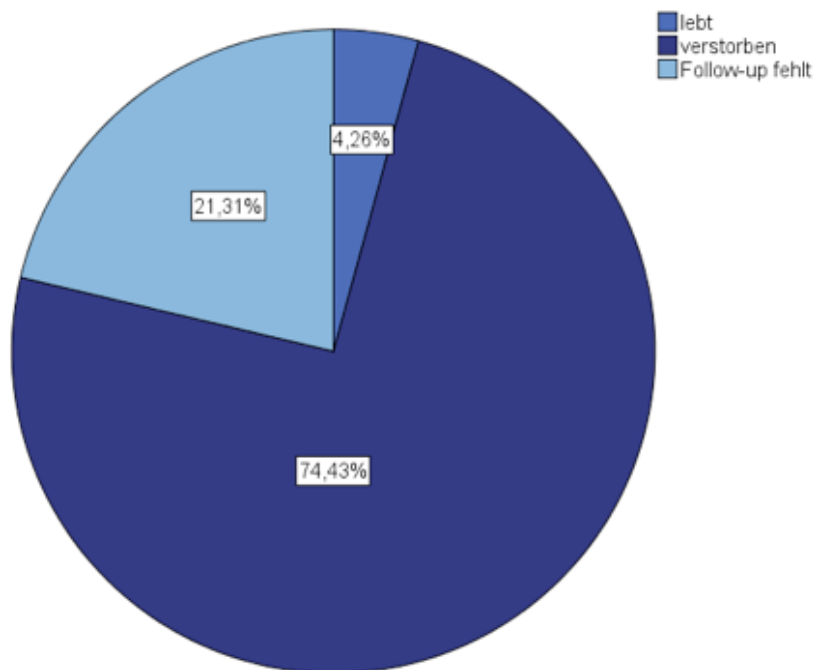
Tabelle 8 Tabellarische Aufschlüsselung der absoluten und relativen Verteilung der histologischen Subtypen



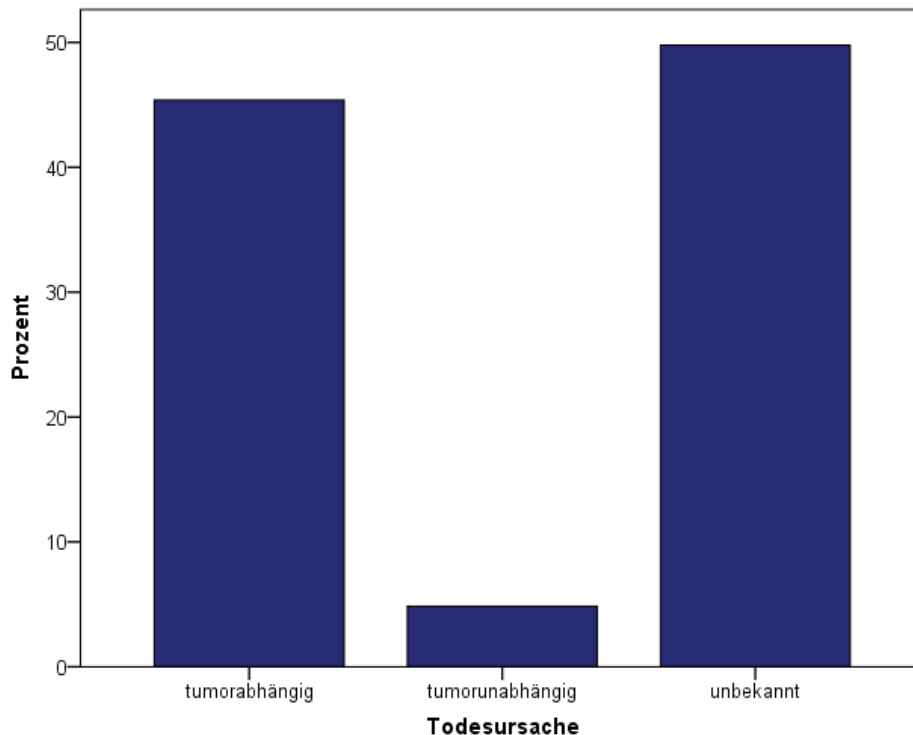
Histologischer Subtyp		Häufigkeit	Prozent
Gültig	Seröses Karzinom	235	77,0
	Muzinöses Karzinom	6	2,0
	Endometrioides Karzinom	26	8,5
	Andere	18	5,9
	Gesamt	285	93,4
Fehlend		20	6,6
Gesamt		305	100,0

*Tabelle 9 Tabellarische Aufschlüsselung der absoluten und relativen Verteilung der histologischen Subtypen nach Einteilung in die im Weiteren verwendeten vier Gruppen*

Bei 78,7% der Patientinnen lagen aktuelle Follow-Up-Daten vor: 227 (74,4%) waren verstorben, 13 (4,3%) lebten noch. Zu 65 (21,3%) lagen keine Follow-Up-Daten vor (siehe Abbildung 7).



*Abbildung 7 Prozentuale Verteilung des Follow-Up-Status*



*Abbildung 8 Prozentuale Verteilung der Todesursachen*

Laut Tumorregister waren 45,4% der dokumentiert Verstorbenen sicher tumorabhängig gestorben, 4,8% tumorunabhängig. In 49,8% der Fälle war die Todesursache unbekannt (siehe Abbildung 8).

Das mittlere Überleben der Patientinnen betrug 55 Monate, umgerechnet 4 Jahre und 7 Monate. Der Median lag bei 32 Monaten, also 2 Jahren und 8 Monaten (siehe Abbildung 9).

Bei einer Patientin konnten sowohl der Primärtumor als auch das Rezidiv ausgewertet werden, sodass hier die Veränderung der Rezeptorexpression im Verlauf der Therapie und der Tumorprogression analysiert werden konnte. Es wurden jedoch nur die Ergebnisse des Primärtumors in die statistische Analyse aufgenommen.

Alle Patientinnen wurden leitliniengerecht in den Jahren 1985 bis 2003 im Klinikum Großhadern und dem Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München operativ und chemotherapeutisch behandelt. Im Rahmen dieser Dissertation wurde der postoperative Tumorrest als relevanter Prognosefaktor für das Überleben in den statistischen Analysen nicht berücksichtigt, da hierzu die gegebene Datenlage nicht ausreichend war und er nicht Gegenstand der Untersuchungen werden sollte.

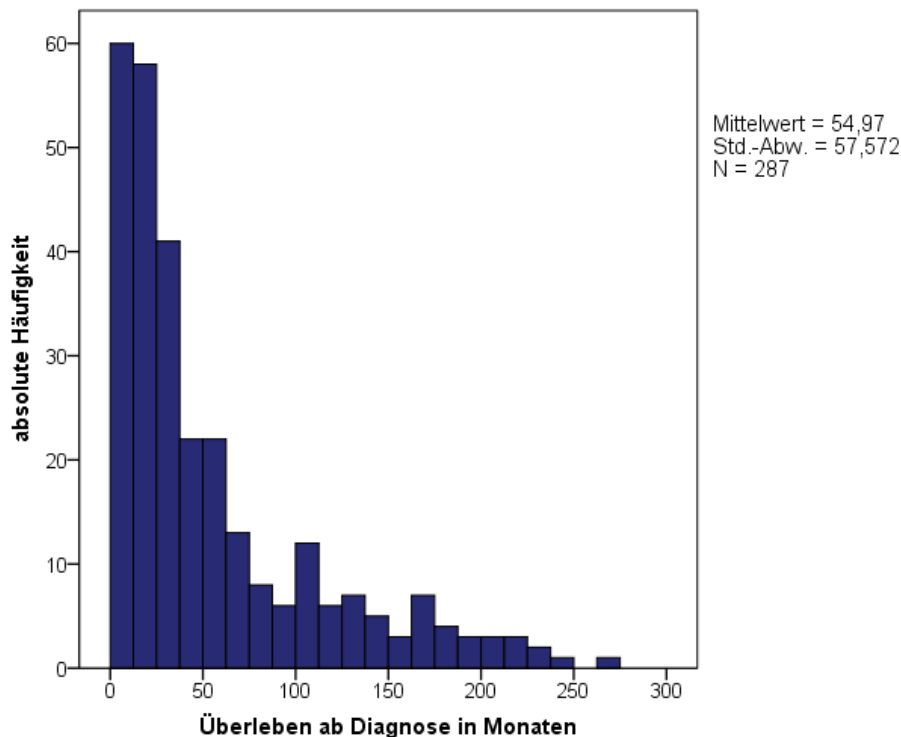


Abbildung 9 Überlebenszeiten ab Diagnosestellung

## 3.2 Material

### 3.2.1 Untersuchungsmaterial

Zur immunhistochemischen Analyse der Rezeptorexpression wurden vier Tissue-Microarray-Blöcke (Abk. TMAs) verwendet, zusammengestellt durch die Arbeitsgemeinschaft Mayr des Pathologischen Instituts der LMU München. Diese TMAs enthielten Gewebestanzten der 305 Patientinnen sowie Kontrollstanzen (siehe Abbildung 10). Die IHC von ER $\alpha$ , PR und Her2/neu wurde vollautomatisch am BenchMark® XT von der Firma Ventana im Labor des Pathologischen Instituts der LMU München durchgeführt. Die IHC für LHR, FSHR, GPER sowie Gal-7 wurde manuell im Labor der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe Campus Innenstadt durchgeführt.

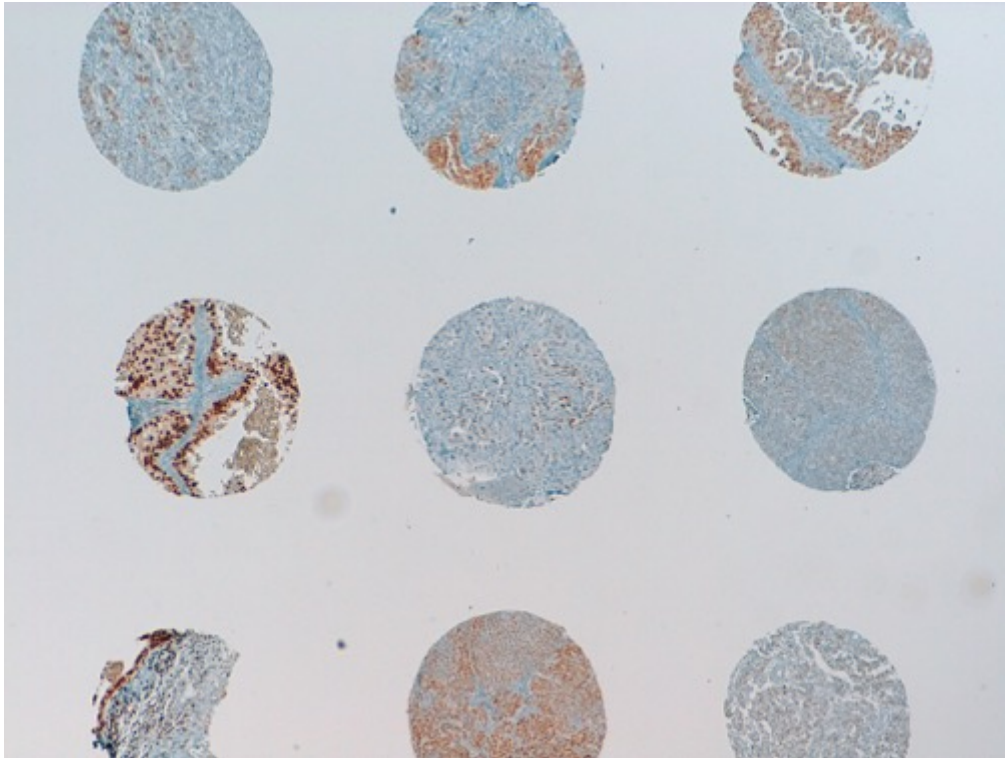


Abbildung 10 Ausschnitt eines immunhistochemisch gefärbten TMAs (1,25fache Vergrößerung)

### 3.2.2 Geräte, Materialien und Chemikalien

#### 3.2.2.1 Geräte

- BenchMark® XT	Ventana (Tucson, USA)
- Dampfkochtopf vitavit	Fissler (Idar-Oberstein, D.)
- Digitale Kamera Leica DMD108	Leica (Wetzlar, D.)
- Gefrierschrank, -80°C	Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)
- Glasspatel	Diverse Firmen
- Heizplatte	Severin (Sundern, D.)
- Inkubationsschrank	Bosch (Gerlingen, D.)
- Kühlschrank, 4°C	Siemens (München, D.)
- Lichtmikroskop Leica DM2500	Leica (Wetzlar, D.)
- Pipetten	Eppendorf (Hamburg, D.)
- Vortex Genie 2	Bender & Hobein (Zürich, S.)

### 3.2.2.2 Verbrauchsmaterialien

- Deckgläser „Thermo Scientific“ 24x60mm	Menzel-Gläser (Braunschweig, D.)
- Eppendorfgefäße, 15ml	Eppendorf (Hamburg, D.)
- Messzylinder, 1000ml	VitLab (Grossostheim, D.)
- Messzylinder, 100ml	Brand (Wertheim, D.)
- Objektträger SuperFrost®	Menzel-Gläser (Braunschweig, D.)
- Pipettenspitzen epTIPS Standard, 1000µl	Eppendorf (Hamburg, D.)
- Pipettenspitzen Premium Tips, 10µl	Biozym (Hessisch Oldendorf, D.)
- Pipettenspitzen SurPhob, 100µl	Biozym (Hessisch Oldendorf, D.)

### 3.2.2.3 Chemikalien

- destilliertes Wasser (Abk. Aqua dest.)	Apotheke Innenstadt LMU (München, D.)
- Einschlussharz Eukitt	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
- Ethanol, 100%ig, 75%ig, 50%ig	Apotheke Innenstadt LMU (München, D.)
- Leitungswasser	
- Liquid DAB (Diaminobenzidin) + Substrate	Dako (Hamburg, D.)
- Lösung A und Lösung B	Merck Millipore (Darmstadt, D.)
- Methanol	J.T. Baker, Avantor Performance Materials (Center Valley, USA)
- Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)	Life Technologies (Carlsbad, USA)
- Saures Hämalun nach Mayer	Apotheke Innenstadt LMU (München, D.)
- Xylol	Apotheke Innenstadt LMU (München, D.)

### 3.2.2.4 Antikörper

- Anti-ER $\alpha$ rabbit IgG monoklonal, Bestellnr. 790-4324	Ventana (Tucson, USA)
- Anti-PR rabbit IgG monoklonal, Bestellnr. 790-4296	Ventana (Tucson, USA)

- Anti-Her2/neu rabbit IgG monoklonal, Ventana (Tucson, USA)  
Bestellnr. 790-4493
- Anti-FSHR rabbit IgG polyklonal, Bestellnr. Novus Biologicals (Littleton, USA)  
NLS2231
- Anti-Gal7 rabbit IgG polyklonal, Bestellnr. Abcam (Cambridge, E.)  
ab10482
- Anti-GPR30/GPER rabbit IgG polyklonal, Lifespan Biosciences (Seattle, USA)  
Produktnr. LS-C92467
- Anti-LHCGR rabbit IgG polyklonal, Acris (Herford, D.)  
Bestellnr. SP4594P

### **3.2.2.5 Detektionssysteme**

- Vectastain Elite rabbit-IgG-Kit, Nr. PK6101 Vector Laboratories (Burlingame, USA)
- ZytoChem Plus HRP Polymer System Zytomed Systems (Berlin, D.)  
(Mouse/Rabbit), Nr. POLHRP-100

## **3.3 Immunhistochemie**

Die IHC ist ein sowohl in der pathologischen Forschung als auch dem klinischen Alltag etabliertes Verfahren, mit dem Antigenstrukturen auf histologischen Präparaten detektiert werden können. Durch eine spezifische Antigen-Antikörper-Bindung und nachfolgende Färbung der Immunkomplexe kann eine lichtmikroskopische Beurteilung stattfinden.

### **3.3.1 Allgemeine Prinzipien der Immunhistochemie**

Mittels Immunhistochemie können Antigene jeglicher biochemischen Art (Oligosaccharide, Polypeptide etc.) angefärbt werden. Unterschieden werden die direkte und die indirekte Methode der IHC.

Die direkte Methode bedient sich eines Antikörpers, an den ein Detektionssystem (z.B. ein Enzym oder ein fluoreszierender Farbstoff) gekoppelt ist. Die Färbung gelingt durch Bindung des gekoppelten Antikörpers an das Epitop des Antigens.

Das Grundprinzip der indirekten Methode besteht in der Bindung eines Primärantikörpers an das gesuchte Epitop mit darauffolgender Koppelung des Primärantikörpers an einen Sekundärantikörper, an welchen das Detektionssystem gebunden ist. Der Komplex aus Antikörper und mittels kovalenter Bindung gebundenem Markermolekül nennt sich Immunkonjugat. Durch die indirekte Methode kann eine Kontrastverstärkung erzielt werden, da an einen Primärantikörper mehrere Sekundärantikörper binden können. Für diese Studie wurde das Verfahren der indirekten Methode mit zwei verschiedenen Detektionssystemen gewählt: Die ABC-Methode und die ZytoChem-Plus HRP Polymer-Methode.

### 3.3.2 Durchführung

Die immunhistochemischen Färbungen für die Rezeptoren LHR, FSHR, Gal-7 sowie GPER wurden nach den in der Frauenklinik der LMU München etablierten Protokollen durchgeführt. Sie fanden an formalinfixierten, in Paraffinblöcken eingebetteten Präparaten statt, die mit Hilfe des Schlittenmikrotoms in 2-3µm dicke Schnitte geschnitten und anschließend auf einen gut haftenden, beschichteten Objektträger (Superfrost Plus®) gebracht wurden.

Entparaffinieren: Zu Beginn des Prozesses wurde das Präparat von dem zum Einbetten verwendeten Paraffin befreit. Dies wurde durch ein 20minütiges Bad in Xylol erreicht. Anschließend wurde das Präparat in 100%igem Ethanol geschwenkt.

Blockieren der endogenen Peroxidasen: Die endogenen Peroxidasen wurden durch ein 20minütiges Bad in 3%-igem Wasserstoffperoxid in Methanol (3ml 30%iges Wasserstoffperoxid + 97ml Methanol) inaktiviert, um deren störenden Einfluss auf die Färbereaktion zu verhindern. Zur Entfernung des Xylols wurden die Präparate durch eine absteigende Alkoholreihe (100%-, 70%- und 50%iges Ethanol) gezogen. Alkoholreste wurden im letzten Schritt in destilliertem Wasser (Abk. Aqua dest.) herausgewaschen.

Antigendemaskierung: Durch die vorangegangene Fixation des Präparates mit Formaldehyd bildeten sich innerhalb der Gewebestruktur Aldehyde, genauer Methylenbrücken, die eine adäquate Antikörperbindung an die Epitope der Antigene verhindern. Zur Lösung dieser Methylenbrücken wurde eine hitzeinduzierte Antigendemaskierung vorgenommen. Zu diesem Zweck wurden die Präparate für ca. fünf Minuten in einen Kochtopf, der mit einem kochenden Natrium-Citratpuffer (Gebrauchslösung aus Lösung A – Citronensäure-Monohydrat in Aqua dest. - und Lösung B – Natrium-Citrat in Aqua dest.) gefüllt war, gelegt

und so die Protein-Quervernetzungen gespalten. Anschließend wurden die Schnitte mit Aqua dest. gespült und zehn Minuten in Phosphatgepufferter Salzlösung (Abk. PBS), einer Pufferlösung mit pH 7,4, gewaschen.

Antikörperbindung: Sowohl bei der ABC-Methode als auch der ZytoChem-Plus HRP Polymer-Methode wurden die Präparate mit einem Blockiermedium versehen, das die elektrostatischen Ladungen im Gewebe absättigt. Bei der ABC-Methode wurde das Blockiermedium 20 Minuten auf dem Schnitt belassen, bei der HRP Polymer-Methode fünf Minuten. Dies diente dem Zweck eine unspezifische Bindung des Primärantikörpers durch hydrophobe Bindungen zu verhindern. Anschließend wurde das Gewebe für 16 Stunden mit dem Primärantikörper inkubiert. Nach Abwaschen des Antikörpers wurde der Sekundärantikörper aufgetragen. Ab diesem Zeitpunkt unterscheiden sich die beiden Detektionsverfahren und werden deshalb getrennt besprochen. Bei beiden Verfahren handelt es sich um die indirekte Methode.

### 3.3.3 ABC-Methode

ABC ist die in Laboratorien üblicherweise verwendete Abkürzung für den Avidin-Biotin-Komplex. Der Sekundärantikörper ist bei dieser Methode biotinyliert, das heißt er ist an das wasserlösliche Vitamin Biotin gekoppelt. Avidin ist ein Glykoprotein, das ursprünglich aus Hühnereiweiß gewonnen wurde. Heute bedient man sich einer sensitiveren, gentechnisch hergestellten und aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii* gewonnenen Variante, dem sogenannten Streptavidin, an welches das Enzym Peroxidase gekoppelt wird. Streptavidin bindet mit drei seiner vier Bindungsstellen hochaffin an Biotin (siehe Abbildung 11). Dieses IHC-Verfahren wurde für den Nachweis von GPER verwendet.

Färbung: Der Komplex aus Primärantikörper und biotinyliertem Sekundärantikörper wurde im nächsten Schritt nach zehnminütiger Waschung in PBS für zwei Minuten mit dem Chromogen Diaminobenzidin (Abk. DAB) und dessen Substratpuffer in Kontakt gebracht. DAB wird durch die an Streptavidin gekoppelte Peroxidase oxidiert und bildet so ein unlösliches Präzipitat. Antikörpertragende Strukturen färben sich auf diese Weise braun an. Im Folgenden wurden die Präparate zehn Minuten lang in Aqua dest. gewaschen.

Gegenfärbung: Anschließend fand die Gegenfärbung mit saurem Hämalun nach Mayer statt (zwei Minuten). Durch die basischen Farbstoffe wurden vor allen Dingen negativ



geladene Zellstrukturen angefärbt, meist handelt es sich dabei um die negativ geladenen Phosphatgruppen der sich im Nukleus befindlichen DNS. Der Säureträger des Hämalauns wurde mit Hilfe von Leitungswasser (fünf Minuten) ausgewaschen.

Dehydrierung: Mit Hilfe einer aufsteigenden Alkoholreihe mit 50%-, 70%- und 100%igem Ethanol und darauffolgendem Xylol wurden die Schnitte dehydriert und so zum Eindecken vorbereitet.

Eindecken: Für den langfristigen Erhalt des Präparates wurde es zum Abschluss unter Einsatz von Eukitt® eingedeckt.

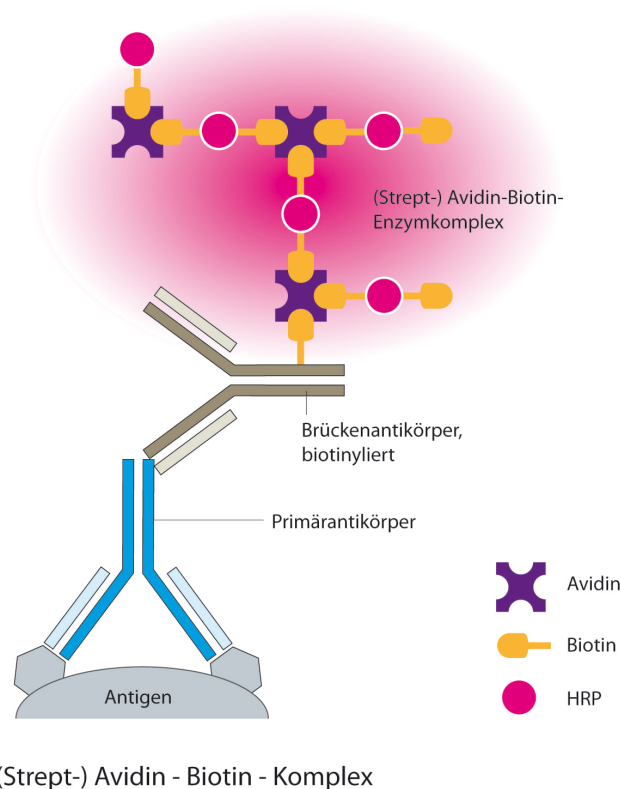


Abbildung 11 Indirekte ABC-Methode (HRP = Horse Radish Peroxidase) © Copyright MORPHISTO GmbH; Internetquelle: <http://www.morphisto.de/immunhistochemie/methoden/> (07.06.2018)

### 3.3.4 HRP Polymer-Methode

Zur Vermeidung der Hintergrundfärbung des Gewebes durch endogenes Biotin im Rahmen der ABC-Methode wurde die HRP Polymer-Methode entwickelt. Auch die HRP Polymer-Methode bedient sich für die Färbereaktion einer Peroxidase. HRP steht für Horse Radish Peroxidase (deutsch: Meerrettichperoxidase). Diese Namensgebung beruht auf der Tatsache, dass sie aus der Wurzel des Meerrettichs gewonnen wird. Das vor der Inkubation mit dem Primärantikörper verwendete Blockiermedium trägt im Kit der Firma Zytomed den Namen Blocking Solution (Reagent 1). Nach der 16stündigen Inkubationszeit des Primärantikörpers wird zur weiteren Signalverstärkung ein Post Block (Reagent 2) für 20 Minuten aufgetragen, dieser wird mit Hilfe von PBS gewaschen und anschließend wird das Immunkonjugat (Reagent 3) hinzugegeben und für 30 Minuten auf dem Objektträger belassen. Nach erneutem Waschen in PBS findet die Substratfärbung mit DAB analog der ABC-Methode statt. Auch alle weiteren Schritte können dem oben erläuterten Prinzip entnommen werden.

Mittels der HRP-Polymer-Methode wurden Gal-7, LHR und FSHR gefärbt.

### 3.3.5 Primärantikörper

Grundsätzlich werden polyklonale, monoklonale und rekombinante Antikörper unterschieden. Für diese Arbeit wurden für die manuell durchgeführte IHC ausschließlich polyklonale Antikörper angewandt. Hierbei handelt es sich um Antikörper, die nach erfolgter Immunisierung eines Versuchstiers mit einem Antigen aus dem Serum des Tieres extrahiert werden. Polyklonale Antikörper sind die Produkte vieler verschiedener B-Zellen und richten sich somit gegen unterschiedliche Epitope des Antigens. Alle vier Antikörper für die nicht-automatische IHC stammten aus immunisierten Kaninchen (rabbit). Verschiedene Primärantikörper-Verdünnungen wurden an vorhandenen Probe-Schnitten getestet, im Speziellen auch an TMAs, da diese aufgrund der Größe der einzelnen Gewebestanden noch größere Ansprüche an die Sensitivität des immunhistochemischen Verfahrens stellten. Endgültig wurden die nachfolgenden Antikörperversünnungen (versünn in PBS) zur immunhistochemischen Analyse des Patientenkollektivs verwendet:

- 1) GPER: 1:1000
- 2) Gal-7: 1:600
- 3) FSHR: 1:100
- 4) LHR: 1:300

Die Antikörper zur Detektion von ER $\alpha$ , PR und Her2/neu waren monoklonale ready-to-use-Antikörper (rabbit) und konnten ohne weiteres Versünnen für die IHC am BenchMark® XT

von Ventana verwendet werden. Zur Produktion derartiger monoklonaler Antikörper wird analog zur Herstellung polyklonaler Antikörper zunächst eine in-vivo Immunisierung eines Kaninchens mit einem Antigen durchgeführt. Nach Milz- oder Lymphknotenextraktion werden antikörperproduzierende B-Zellen isoliert und mit vorbereiteten neoplastischen Myelomazellen fusioniert. Die Myelomazellen sind unsterblich und können sich unbegrenzt oft teilen. Die durch Fusion entstandene sogenannte Hybridomazelle ist somit theoretisch zur zeitlich unbegrenzten Produktion monoklonaler Antikörper fähig. Alternativ wird zur Herstellung monoklonaler Antikörper seltener auch eine in-vitro-Immunisierung durchgeführt.

### 3.4 Mikroskopische Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Alle 28 immunhistochemisch gefärbten Objektträger (vier TMA-Blöcke, sieben Rezeptorfärbungen) wurden im Pathologischen Institut der LMU München lichtmikroskopisch ausgewertet. Hierfür wurde der Immunreaktive Score (Abk. IRS), der auch bekannt ist als Hormonrezeptorscore nach Remmele und Stegner, angewandt (siehe Tabelle 10). Etabliert ist dieser Score in der Beurteilung der Expression von ER und PR im Rahmen der Mammakarzinom-Diagnostik. Aufgrund des Fehlens eines standardisierten Scores für GPER, Gal-7, FSHR und LHR wurde der gleiche Score verwendet. Dabei wurden die jeweils nebeneinanderliegenden Stenzen des gleichen Tumors unmittelbar miteinander verglichen. Bei kleineren Diskrepanzen in der Intensität oder dem Prozentsatz positiver Zellen wurde das Ergebnis der Stanze mit dem größeren Tumolvolumen verwendet, das andere Ergebnis unmittelbar verworfen. Zur Minimierung der Intraobserver-Variabilität wurden alle Schnittpräparate einer Färbung an ein und demselben Tag von ein und derselben Person beurteilt. Zur Vermeidung der Interobserver-Variabilität wurden die Ergebnisse stichprobenartig von einem zweiten Auswerter (Betreuerin Prof. Dr. med. D. Mayr) kontrolliert.

Färbeintensität		Anteil positiver Zellen	
Keine Reaktion	0	0	0
Schwache Reaktion	1	< 10%	1
Mäßige Reaktion	2	10 – 50%	2
Starke Reaktion	3	50 – 80%	3
		80 – 100%	4

*Tabelle 10 Kriterien des Immunreaktiven Scores/Hormonrezeptorscores nach Remmele und Stegner*

Der IRS berechnet sich als Produkt aus den vergebenen Punktwerten für die Färbintensität und den Anteil der positiven Zellen am Tumervolumen (siehe Tabelle 11).

Berechneter IRS	Interpretation des IRS
0-2	Negativ
3-4	Schwach positiv
6-8	Mäßig positiv
9-12	Stark positiv

*Tabelle 11 Interpretation des errechneten IRS*

Her2/neu wurde nach seinem üblicherweise in der Mammakarzinom-Diagnostik verwendeten HercepTest Score beurteilt (siehe Tabelle 12).

Färbemuster	Bewertung der Überexpression	HercepTest Score
Keine Reaktion oder Membranfärbung in <10% der Tumorzellen	Negativ	0
Schwache Membranfärbung in >10% der Tumorzellen, Membran jedoch nur teilweise angefärbt	Negativ	1+
Schwache bis moderate komplette Membranfärbung in >10% der Tumorzellen	Mäßig Positiv	2+
Starke komplette Membranfärbung in >10% der Tumorzellen	Stark Positiv	3+

*Tabelle 12 Kriterien des HercepTest Scores zur Beurteilung der Her2/neu-Expression*

### **3.5 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mit Hilfe des Statistik-Programms IBM SPSS Statistics 22 und der Unterstützung des Tumorregisters München durchgeführt.

Im Zuge der deskriptiven Statistik wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (Spearman's Rho) berechnet, um einen monotonen Zusammenhang zwischen zwei mindestens ordinalskalierten, nicht intervallskalierten und nicht-dichotomen Variablen darzustellen. Die Testung auf 2-seitige Signifikanz errechnete SPSS automatisch mit Angabe des p-Wertes. Der Zusammenhang zwischen einer nominal- und einer ordinalskalierten Variablen (histologische Subtypen – Rezeptorexpression) wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests überprüft. Da bei Vorhandensein von Zellen mit einer erwarteten Häufigkeit  $<5$  der Chi-Quadrat-Test statistisch nicht verwertbar ist, wurde in diesen Fällen der Exakte Test nach Fisher durchgeführt.

Die Überlebensanalysen wurden mit Hilfe von Kaplan-Meier-Kurven und Überlebenstabellen berechnet. Hierbei wurde sowohl das gesamte Überleben als auch das relative Überleben als geeignetes Korrelat für die krebsbedingte Mortalität berechnet. Hierfür wurde der Quotient aus absolutem Überleben der Krebspatientinnen und erwartetem Überleben der Allgemeinbevölkerung (Daten stammten aus dem Tumorregister München) gebildet. Mittels des Log-Rank-Tests wurden Unterschiede in den Kurvenverläufen über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg auf Signifikanz überprüft. Der manuelle Vergleich der Konfidenzintervalle spezifischer Endpunkte (z.B. 5-Jahres-Überleben bei Subgruppen) untersuchte, ob in diesen Fällen signifikante Unterschiede vorlagen. Bei Überlappen der Konfidenzintervalle konnte keine Signifikanz angenommen werden, wenn die Konfidenzintervalle sich jedoch nicht überschnitten, so bestand eine Signifikanz auf dem 5%-Niveau. Für die Untersuchung, ob sich die zentrale Tendenz einer ordinalskalierten Variablen zwischen zwei unabhängigen Gruppen voneinander unterschied, wurde der Mann-Whitney-U-Test gebraucht.

Das Cox-Modell (proportionales Hazard Modell) als multivariate Überlebenszeitanalyse wurde angewandt, um den Effekt verschiedener Rezeptorkonstellationen auf das Überleben der Patientinnen vergleichend darzustellen. Statt des tumorabhängigen Todes wurde der Tod als Endpunkt gewählt, um die Gruppe der Patientinnen, die den Endpunkt erreicht haben, zu vergrößern. Hierbei wurde keine Risikofaktor-Adjustierung vorgenommen. Verglichen wurden Rezeptor-Expressionskonstellationen von zwei Rezeptoren im Vergleich zu doppelt negativer Rezeptorexpression. Somit konnte das Risiko, den Endpunkt zu erreichen, für die Patientengruppen im Vergleich zur Referenzgruppe (doppelt negativ) berechnet werden.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Deskriptive Statistik

Für alle Berechnungen der deskriptiven Statistik wurde der IRS (siehe Tabelle 11, Kapitel 3.4) bzw. das Ergebnis des HercepTest Scores (siehe Tabelle 12, Kapitel 3.4) verwendet.

#### 4.1.1 Histologische Subtypen

Tabelle 13 zeigt die Korrelation zwischen den histologischen Subtypen und dem Grading, bei der ein hochsignifikanter Zusammenhang beobachtet werden konnte (Exakter Test nach Fisher: Zweiseitige exakte Signifikanz von  $p=0,01$ ).

		Histologischen Subtypen				Gesamt
		seröses Karzinom	muzinöses Karzinom	endometr. Karzinom	andere	
<b>Grading</b>	gut differenziert	5 (2,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (5,9%)	6 (2,2%)
	mäßig differenziert	85 (37,3%)	2 (33,3%)	15 (62,5%)	1 (5,9%)	103 (37,5%)
	schlecht bis undifferenziert	138 (60,5%)	4 (66,7%)	9 (37,5%)	15 (88,2%)	166 (60,4%)
	Gesamt	228 (100%)	6 (100%)	24 (100%)	17 (100%)	275 (100%)

Tabelle 13 Kreuztabelle zwischen Grading und histologischen Subtypen

Es bestand kein signifikanter Zusammenhang ( $p=0,137$ ) zwischen dem histologischen Subtyp und dem FIGO-Stadium, siehe Tabelle 14. 70,7% aller Patientinnen (200 von 283 Patientinnen), bei denen sowohl der histologische Subtyp als auch das FIGO-Stadium bekannt waren, hatten ein seröses Ovarialkarzinom im FIGO-Stadium III.

		Histologische Subtypen				Gesamt
		seröses Karzinom	muzinöses Karzinom	endometr. Karzinom	andere	
<b>FIGO-Stadium</b>	I	16 (6,9%)	1 (16,7%)	6 (23,1%)	1 (5,6%)	24 (8,5%)
	II	16 (6,9%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)	3 (16,7%)	20 (7,1%)
	III	200 (85,8%)	5 (83,3%)	19 (73,1%)	14 (77,8%)	238 (84,1%)
	IV	1 (0,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,4%)
Gesamt		233 (100%)	6 (100%)	26 (100%)	18 (100%)	283 (100%)

Tabelle 14 Kreuztabelle zwischen FIGO-Stadium und histologischen Subtypen

### 4.1.2 ER $\alpha$

Bei 28 der 305 Patientinnen (9,2%) konnte die ER $\alpha$ -Expression der Tumorzellen nicht ausgewertet werden. Die Ergebnisse der IHC können im Detail Tabelle 15 entnommen werden.

ER $\alpha$ -Expression	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negativ	104	34,1	37,5
	schwach positiv	64	21,0	60,6
	mäßig positiv	70	23,0	85,9
	stark positiv	39	12,8	100,0
	Gesamt	277	90,8	100,0
Fehlend	nicht beurteilbar	28	9,2	
Gesamt	305	100,0		

Tabelle 15 ER $\alpha$ -Expression des Patientenkollektivs

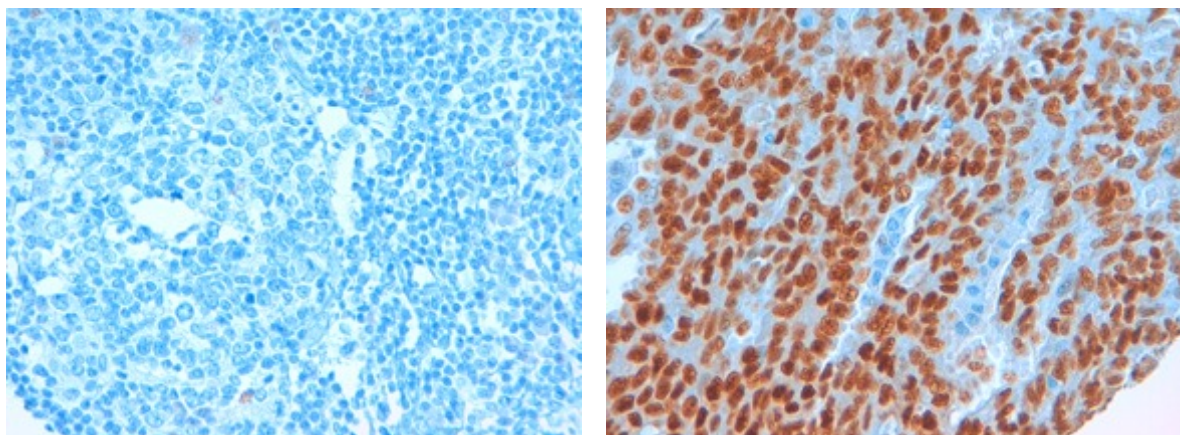


Abbildung 12 40fache Vergrößerung – links ER $\alpha$ -negativ, rechts stark ER $\alpha$ -positiv

Die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ergab einen hochsignifikanten positiven monotonen Zusammenhang zwischen der Expression von ER $\alpha$  und dem FIGO-Stadium (Spearman's Rho = 0,198; p=0,001; n=259). Umso stärker ER $\alpha$  in den Ovarialkarzinom-Zellen exprimiert war, desto höher war das FIGO-Stadium. Kein signifikanter Zusammenhang konnte zwischen ER $\alpha$  und dem Tumor-Grading (Spearman's Rho = -0,037; p=0,563; n=252) gefunden werden.

Die Berechnung des Exakten Tests nach Fisher erbrachte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem histologischen Subtyp und der ER $\alpha$ -Expression (p=0,415).

## 4.1.3 PR

Der PR war bei elf Fällen des Kollektivs (3,6%) nicht beurteilbar. Es gab einen großen Anteil an PR-negativen Fällen (64,9%), wohingegen nur 14,5% der Patientinnen eine mäßig (8,9%) oder stark positive (5,6%) Rezeptorexpression aufwiesen (siehe Tabelle 16).

PR-Expression		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negativ	198	64,9	67,3	67,3
	schwach positiv	52	17,0	17,7	85,0
	mäßig positiv	27	8,9	9,2	94,2
	stark positiv	17	5,6	5,8	100,0
	Gesamt	294	96,4	100,0	
Fehlend	nicht beurteilbar	11	3,6		
Gesamt		305	100,0		

Tabelle 16 PR-Expression des Patientenkollektivs

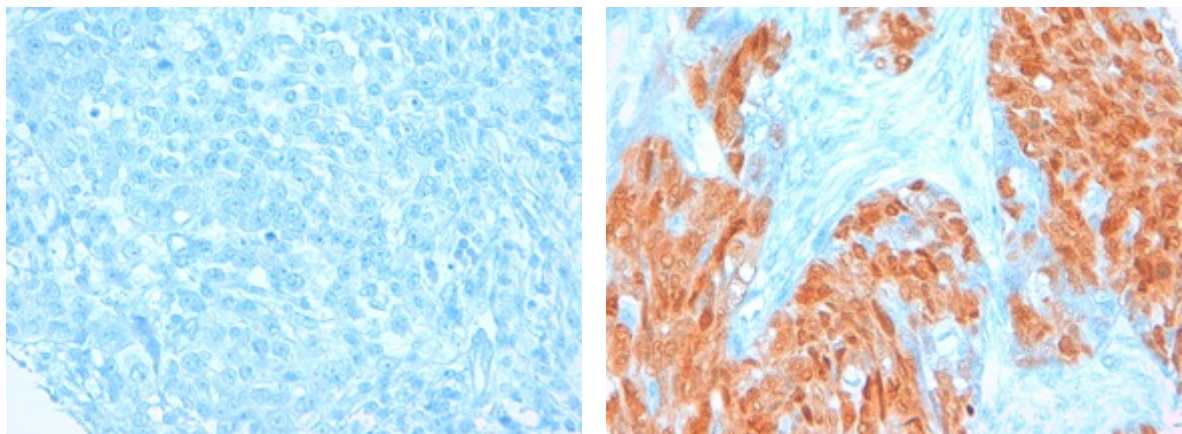


Abbildung 13 40fache Vergrößerung – links PR-negativ, rechts stark PR-positiv

Die statistischen Analysen ergaben weder einen signifikanten Zusammenhang zwischen PR und Grading der Tumorentitäten (Spearman's Rho = -0,013; p=0,835; n=269) noch zwischen PR und FIGO-Stadium (Spearman's Rho = -0,016; p=0,794; n=276). Die Prüfung des Zusammenhangs zwischen histologischem Subtyp und Expression des PRs ergab mittels Exaktem Test nach Fisher kein signifikantes Ergebnis (p=0,160).



#### 4.1.4 Her2/neu

Entsprechend der allgemein gültigen Konvention wurden die Kategorien 0 und 1 des HercepTest Scores als negative Her2/neu-Expression zusammengefasst. Die untersuchten Ovarialkarzinom-Fälle erwiesen sich in 95,1% der Fälle als Her2/neu-negativ, 3,9% waren nicht beurteilbar und nur einer bzw. zwei der Fälle exprimierten mäßig oder stark Her2/neu (siehe Tabelle 17).

Her2/neu-Expression		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Negativ (0, 1+)	290	95,1	99,0	99,0
	mäßig positiv (2+)	1	0,3	0,3	99,3
	stark positiv (3+)	2	0,7	0,7	100,0
	Gesamt	293	96,1	100,0	
Fehlend	nicht beurteilbar	12	3,9		
Gesamt		305	100,0		

Tabelle 17 Her2/neu-Expression des Patientenkollektivs

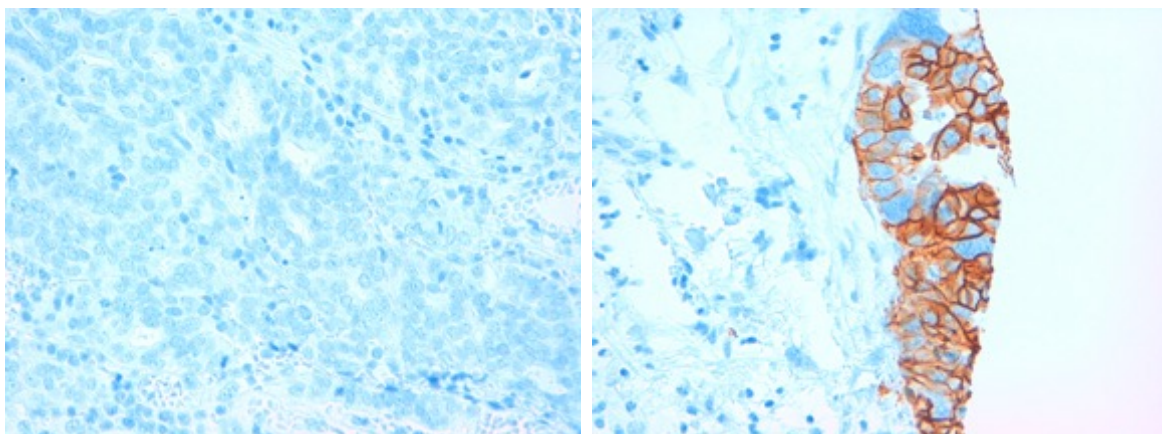


Abbildung 14 40fache Vergrößerung – links Her2/neu-negativ, rechts Her2/neu-positiv

Die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ergab keinen Zusammenhang zwischen der Expression von Her2/neu und dem Grading der untersuchten Präparate (Spearman-Rho = -0,006; p=0,920; n=267). Ebenso wenig konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Expressionsgrad von Her2/neu und dem FIGO-Stadium (Spearman-Rho = -0,074; p=0,222; n=275) gezeigt werden. Der Exakte Test nach Fisher zeigte mit einer 2-seitigen Signifikanz von p=0,078 eine Tendenz zu einem statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Histologie und der Her2/neu-Expression. Wie Tabelle 18 zeigt, waren endometrioiden Karzinome prozentual gesehen eher häufiger Her2/neu-positiv als die anderen histologischen Subtypen.

		Histologische Subtypen				Gesamt
		seröses Karzinom	muzinöses Karzinom	endometr. Karzinom	andere	
<b>Her2/neu-Expression</b>	negativ	225 (99,6%)	5 (100%)	22 (91,7%)	18 (100%)	270 (98,9%)
	mäßig positiv	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (4,2%)	0 (0,0%)	1 (0,4%)
	stark positiv	1 (0,4%)	0 (0,0%)	1 (4,2%)	0 (0,0%)	2 (0,7%)
Gesamt		226 (100%)	5 (100%)	24 (100%)	18 (100%)	273

Tabelle 18 Kreuztabelle zwischen histologischen Subtypen und Her2/neu-Expression

#### 4.1.5 GPER

24,9% waren GPER negativ, 23,6% exprimierten den GPER nur schwach, 29,2% mäßig stark und 15,7% stark. 6,6% der Fälle konnten nicht beurteilt werden (siehe Tabelle 19).

GPER-Expression		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negativ	76	24,9	26,7	26,7
	schwach positiv	72	23,6	25,3	51,9
	mäßig positiv	89	29,2	31,2	83,2
	stark positiv	48	15,7	16,8	100,0
	Gesamt	285	93,4	100,0	
Fehlend	nicht beurteilbar	20	6,6		
Gesamt		305	100,0		

Tabelle 19 GPER-Expression des Patientenkollektivs

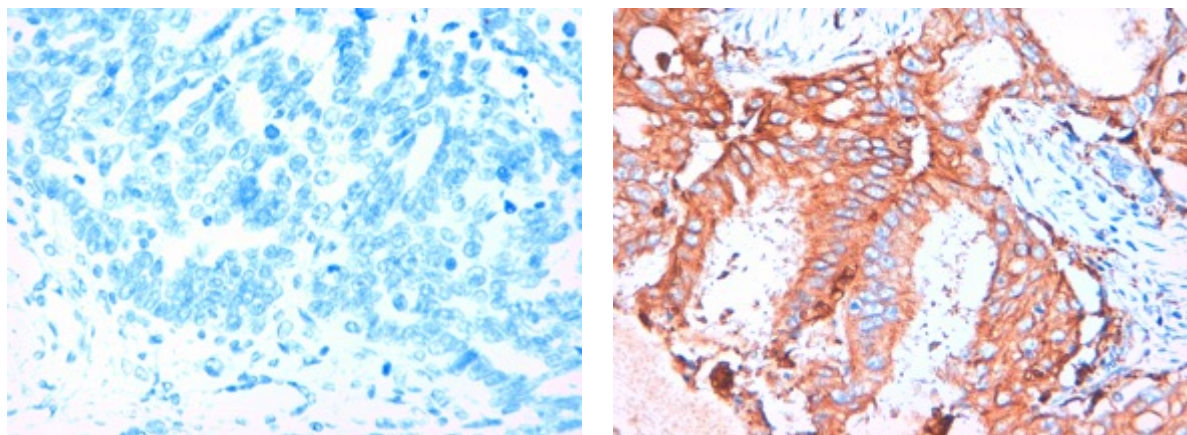


Abbildung 15 40fache Vergrößerung – links GPER-negativ, rechts stark GPER-positiv

Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der GPER-Expression und dem Grading der Tumorzellen (Spearman's Rho = 0,004;  $p=0,944$ ;  $n=262$ ). Hingegen wurde eine signifikante Korrelation zwischen GPER und dem FIGO-Stadium ermittelt: Die beiden Variablen korrelierten invers miteinander (Spearman's Rho = -0,144;  $p=0,018$ ;  $n=269$ ). Mit Hilfe des Exakten Tests nach Fisher konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem histologischen Subtyp und der GPER-Expression gefunden werden ( $p=0,602$ ).

### 4.1.6 Gal-7

86,5% der Fälle war Gal-7 positiv, 5,6% waren nicht beurteilbar. Jeweils ca. ein Drittel der Patientinnen war schwach oder mäßig positiv, 14,1% waren als stark positiv bewertet worden (siehe Tabelle 20).

Gal-7-Expression		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negativ	24	7,9	8,3	8,3
	schwach positiv	118	38,7	41,0	49,3
	mäßig positiv	103	33,8	35,8	85,1
	stark positiv	43	14,1	14,9	100,0
	Gesamt	288	94,4	100,0	
Fehlend	nicht beurteilbar	17	5,6		
Gesamt		305	100,0		

Tabelle 20 Gal-7-Expression des Patientenkollektivs

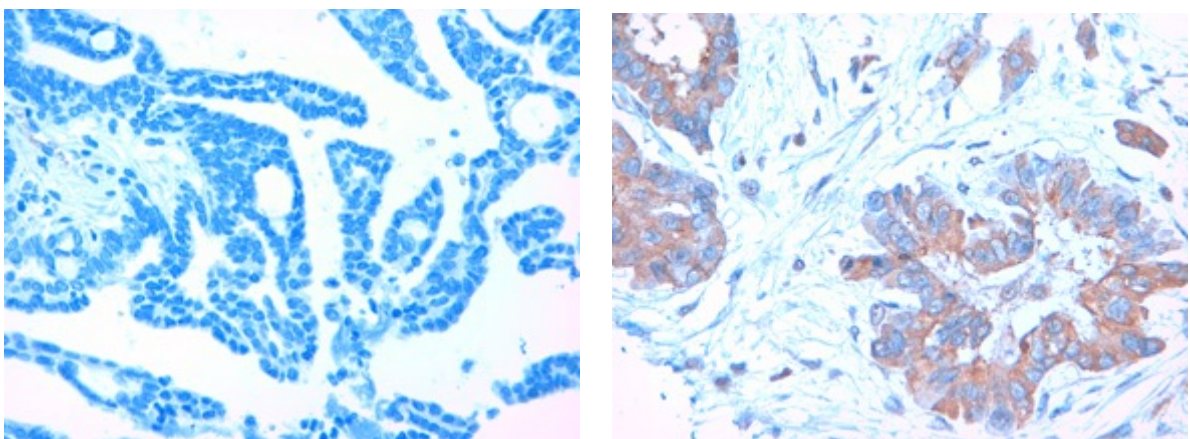


Abbildung 16 40fache Vergrößerung – links Gal-7-negativ, rechts mäßig Gal-7-positiv



Die Berechnung von Spearmans Rho ergab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Gal-7-Expression und dem Grading (Spearmans Rho = -0,069; p=0,265; n=264). Auch konnte keine Korrelation zwischen dem Expressionsgrad von Gal-7 und dem FIGO-Stadium (Spearmans Rho = -0,102; p=0,095; n=271) ermittelt werden.

Der Exakte Test nach Fisher erbrachte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem histologischen Subtyp der Patientinnen und der Gal-7-Expression (p=0,989).

### 4.1.7 FSHR

Knapp die Hälfte der Patientinnen des Kollektivs (44,9%) exprimierte kein FSHR. 9,5% der Präparate konnten nicht beurteilt werden. 18,0% der Patientinnen exprimierten schwach, 18,7% mäßig stark und 8,9% stark den FSHR (siehe Tabelle 21).

FSHR-Expression		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negativ	137	44,9	49,6	49,6
	schwach positiv	55	18,0	19,9	69,6
	mäßig positiv	57	18,7	20,7	90,2
	stark positiv	27	8,9	9,8	100,0
	Gesamt	276	90,5	100,0	
Fehlend	nicht beurteilbar	29	9,5		
Gesamt		305	100,0		

Tabelle 21 FSHR-Expression des Patientenkollektivs

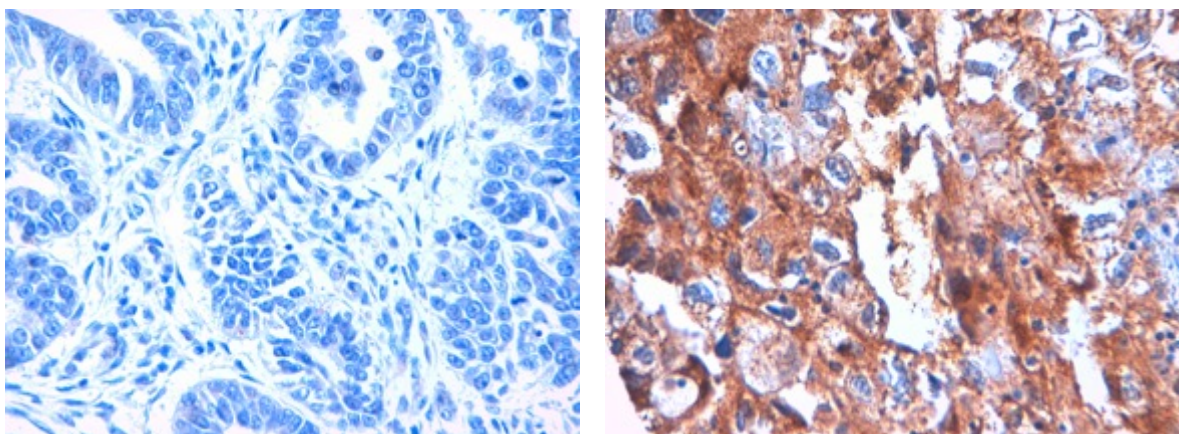


Abbildung 17 40fache Vergrößerung – links FSHR-negativ, rechts stark FSHR-positiv

Es gab keinen signifikanten monotonen Zusammenhang zwischen FSHR und dem Grading (Spearman's Rho = 0,050;  $p=0,427$ ;  $n=253$ ). Ferner konnte kein Zusammenhang zwischen FSHR und dem FIGO-Stadium festgestellt werden (Spearman's Rho = -0,068;  $p=0,272$ ;  $n=260$ ).

Es gab nach dem Exakten Test nach Fisher keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der FSHR-Expression und dem histologischen Subtyp der Tumoren ( $p=0,718$ ).

### 4.1.8 LHR

Ungefähr ein Drittel (34,1%) des Kollektivs wurde als LHR-negativ eingestuft, ein weiteres Drittel (34,4%) als schwach positiv und 21,0% als mäßig positiv. Eine stark positive Expression wurde nur bei 1,0% der Patientinnen gefunden (siehe Tabelle 22).

LHR-Expression		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	negativ	104	34,1	37,7	37,7
	schwach positiv	105	34,4	38,0	75,7
	mäßig positiv	64	21,0	23,2	98,9
	stark positiv	3	1,0	1,1	100,0
	Gesamt	276	90,5	100,0	
Fehlend	nicht beurteilbar	29	9,5		
Gesamt		305	100,0		

Tabelle 22 LHR-Expression des Patientenkollektivs

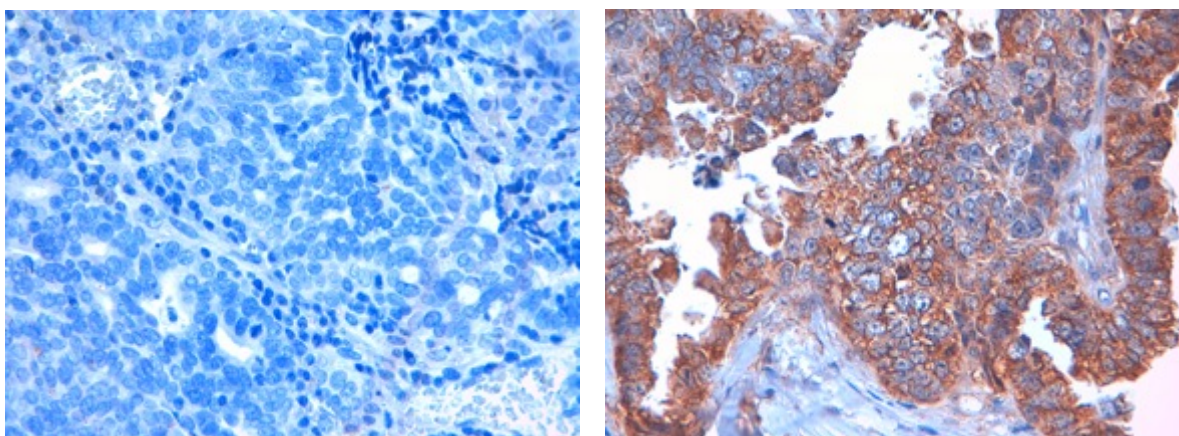


Abbildung 18 40fache Vergrößerung – links LHR-negativ, rechts stark LHR-positiv

Es gab keine Korrelation zwischen LHR und dem Grading der Tumorzellen (Spearman's Rho = 0,007;  $p=0,916$ ;  $n=253$ ). Hingegen gab es eine signifikante Korrelation zwischen LHR und dem FIGO-Stadium (Spearman's Rho = 0,127;  $p=0,041$ ;  $n=259$ ). Mit Hilfe des Exakten Tests nach Fisher konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der LHR-Expression und dem histologischen Subtyp der Patientinnen gefunden werden ( $p=0,343$ ).

### 4.1.9 Korrelation zwischen Rezeptoren

Die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman für die sieben Rezeptoren untereinander ergab die in Tabelle 23 aufgeführten Ergebnisse. Die Korrelationsanalyse zeigte eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen  $ER\alpha$  und PR (Spearman's Rho = 0,266;  $p<0,001$ ;  $n=273$ ). Des Weiteren gab es eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen GPER und Gal-7 (Spearman's Rho = 0,349;  $p<0,001$ ;  $n=275$ ) sowie eine hochsignifikante positive Korrelation zwischen FSHR und LHR (Spearman's Rho = 0,278;  $p<0,001$ ;  $n=264$ ). Ferner zeigte die Korrelationsanalyse, dass eine signifikante positive Korrelation zwischen GPER und FSHR (Spearman's Rho = 0,153;  $p=0,012$ ;  $n=270$ ) und zwischen Gal-7 und FSHR (Spearman's Rho = 0,141;  $p=0,021$ ;  $n=269$ ) bestand. Alle weiteren Korrelationsanalysen zwischen den Rezeptoren ergaben keine signifikanten Ergebnisse. Die signifikanten Ergebnisse sind in Tabelle 23 hervorgehoben.

		ER $\alpha$	PR	Her2/neu	GPER	Gal-7	FSHR	LHR
ER $\alpha$	Rho	---	<b>0,266**</b>	0,003	-0,039	-0,025	-0,069	0,024
	p	---	<b>&lt;0,001</b>	0,962	0,528	0,681	0,269	0,693
	n	---	273	276	266	268	262	264
PR	Rho	<b>0,266**</b>	---	0,035	-0,081	0,017	-0,059	0,018
	p	<b>&lt;0,001</b>	---	0,557	0,176	0,777	0,334	0,763
	n	273	---	287	278	279	269	271
Her2/neu	Rho	0,003	0,035	---	0,092	0,048	-0,009	0,091
	p	0,962	0,557	---	0,124	0,417	0,885	0,134
	n	276	287	---	280	282	273	273
GPER	Rho	-0,039	-0,081	0,092	---	<b>0,349**</b>	<b>0,153*</b>	-0,014
	p	0,528	0,176	0,124	---	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,012</b>	0,821
	n	266	278	280	---	275	270	267
Gal-7	Rho	-0,025	0,017	0,048	<b>0,349**</b>	---	<b>0,141*</b>	0,045
	p	0,681	0,777	0,417	<b>&lt;0,001</b>	---	<b>0,021</b>	0,457
	n	268	279	282	275	---	269	273
FSHR	Rho	-0,069	-0,059	-0,009	<b>0,153*</b>	<b>0,141*</b>	---	<b>0,278**</b>
	p	0,269	0,334	0,885	<b>0,012</b>	<b>0,021</b>	---	<b>&lt;0,001</b>
	n	262	269	273	270	269	---	264
LHR	Rho	0,024	0,018	0,066	-0,014	0,045	<b>0,278**</b>	---
	p	0,693	0,763	0,281	0,821	0,457	<b>&lt;0,001</b>	---
	n	264	271	273	267	273	264	---

Tabelle 23 Rangkorrelation nach Spearman zwischen den sieben Rezeptoren (signifikante Korrelationen sind hervorgehoben; \*Korrelation auf dem 0,05-Signifikanzniveau (2-seitig); \*\*Korrelation auf dem 0,001-Signifikanzniveau (2-seitig))

#### 4.1.10 Rezeptorexpression des Primärtumors und seines Rezidivs

Von einer Patientin lagen zwei Gewebestanzes vor, eine Stanze aus dem Primärtumor, die zweite Stanze aus dem Rezidiv nach Chemotherapie und chirurgischer Intervention. Die jeweiligen Expressionsprofile sind in Tabelle 24 dargestellt. ER $\alpha$ , Gal-7, FSHR und LHR, waren im Rezidiv im Vergleich zum Primärtumor deutlich herunterreguliert, die Expression von PR und Her2/neu hatte sich im Verlauf nicht geändert und die Expression von GPER konnte im Rezidiv nicht beurteilt werden.

	ER $\alpha$	PR	Her2/neu	GPER	Gal-7	FSHR	LHR
<b>Primärtumor</b>	6	0	0	3	6	9	6
<b>Rezidiv</b>	1	0	0	-	4	4	0

*Tabelle 24 Rezeptorexpression unter Verwendung des IRS von Primärtumor und Rezidiv*



## 4.2 Überlebensanalysen

### 4.2.1 Überleben des Gesamtkollektivs

Zu 287 Patientinnen lagen Daten bezüglich des Überlebens vor. Das gesamte/absolute Überleben bezieht alle Todesfälle des Kollektivs, egal ob tumorabhängig oder tumorunabhängig, ein. Das erwartete Überleben demonstriert das Überleben einer fiktiven Kohorte der Normalbevölkerung, das heißt einer Gruppe, die bezogen auf das Alter identisch zusammengesetzt ist wie das untersuchte Kollektiv und nicht an einem Ovarialkarzinom leidet. Das relative Überleben gilt als Schätzer für das tumorspezifische Überleben und berechnet sich als Quotient aus absolutem Überleben und erwartetem Überleben (siehe Tabelle 25, Abbildung 19).

	1 Jahr	2 Jahre	5 Jahre	10 Jahre
<b>Relative Überlebensrate (in %)</b>	86,8	66,0	37,4	22,5

Tabelle 25 Relative Überlebensraten des Gesamtkollektivs

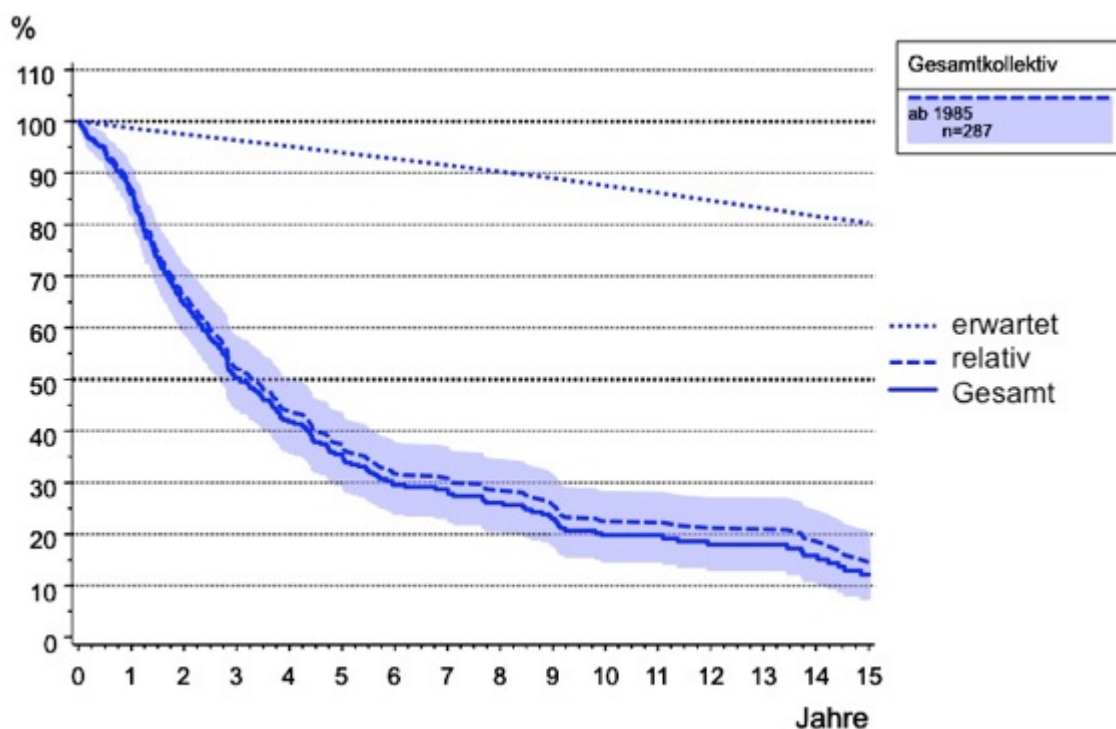


Abbildung 19 Gesamtes, relatives und erwartetes Überleben des Gesamtkollektivs (Konfidenzintervall des Gesamtüberlebens blau hinterlegt)

#### 4.2.2 Faktor FIGO-Stadium im relativen Überleben

Das FIGO-Stadium zeigte sich als hochsignifikanter Prognosefaktor ( $p < 0,001$ ) für das Überleben der Ovarialkarzinom-Patientinnen über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg (siehe Tabelle 26, Abbildung 20). Patientinnen im FIGO-Stadium I und II hatten ein signifikant besseres Überleben als solche in den Stadien III und IV. Gleichzeitig verdeutlichte die Kurve des FIGO-III-Stadiums, dass innerhalb der ersten fünf Jahre nach Diagnosestellung ca. 70% der Patientinnen verstorben waren. Danach flachte die Kurve ab und nach 10 Jahren lebten noch knapp 20% der Frauen.

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	23,9656	3	<0,001

Tabelle 26 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach FIGO-Stadium

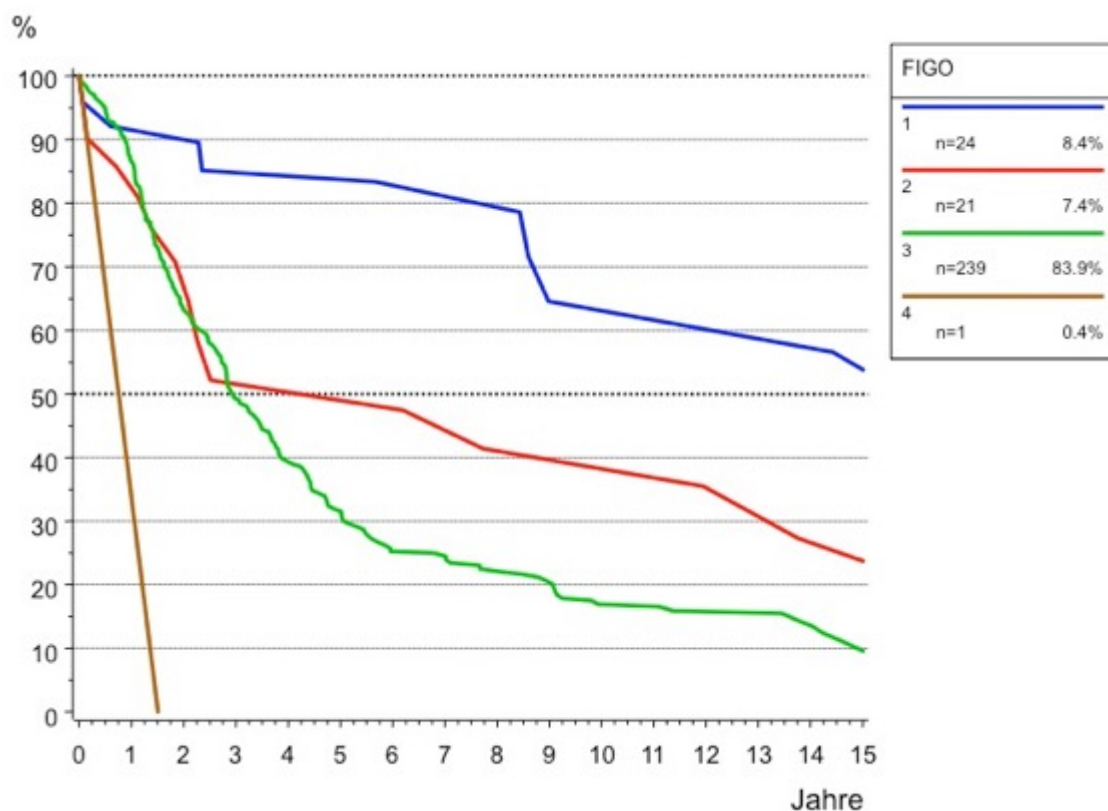


Abbildung 20 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FIGO-Stadium

### 4.2.3 Faktor Grading im relativen Überleben

Die Berechnung des relativen Überlebens stratifiziert nach dem Grading der Tumorentitäten ergab, dass es hochsignifikante Unterschiede der Überlebenszeiten über den gesamten Zeitraum in den Grading-Subgruppen gab ( $p < 0,001$ ). Das Grading war somit ein signifikanter Prognosefaktor für die Patientinnen. Abbildung 21 verdeutlicht die intermediäre Prognose der Patientinnen mit G2-Tumoren (siehe auch Tabelle 27). Bezogen auf spezifische Endpunkte differierte zum Beispiel die 5-Jahres-Überlebensrate zwischen Grading 1, 2 und 3 signifikant.

Relatives 5-Jahres-Überleben und dessen Konfidenzintervalle:

Grading 1: 74,7% (74,7 – 74,7%)

Grading 2: 48,6% (37,5 – 59,0%)

Grading 3: 28,0% (20,8 – 35,6%)

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	24,1040	2	<0,001

Tabelle 27 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach Grading

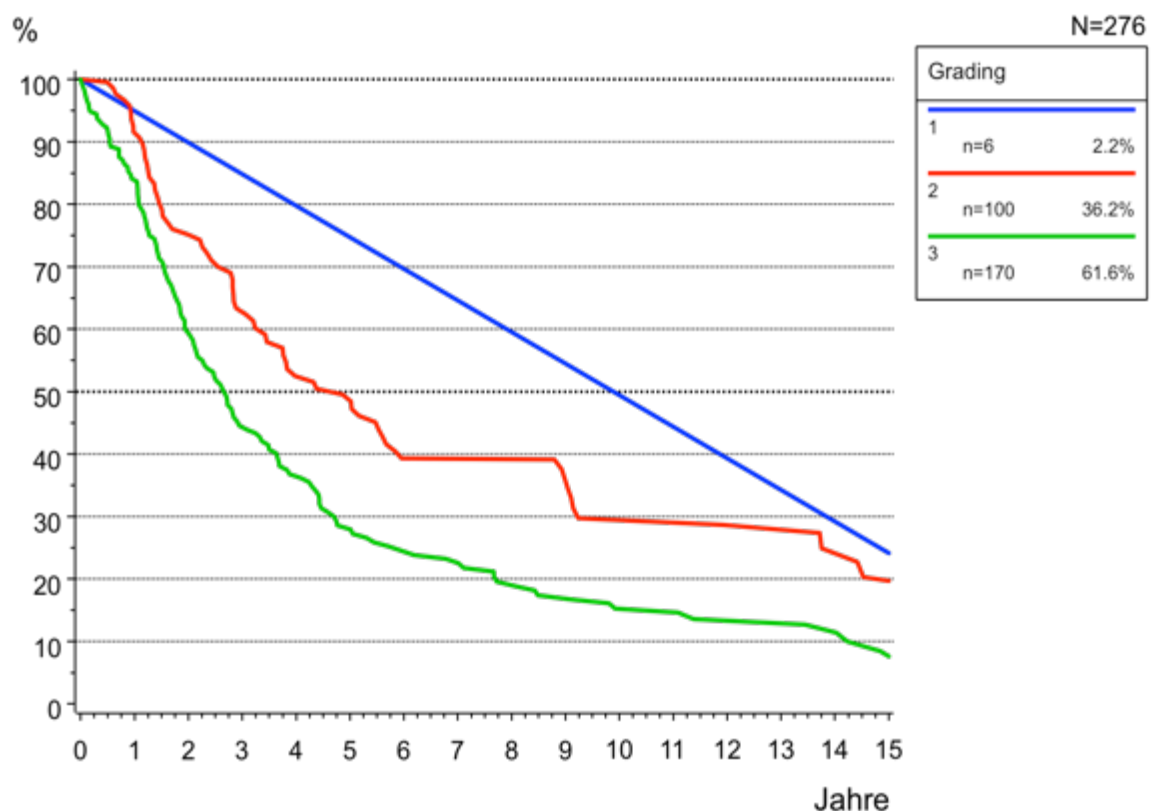


Abbildung 21 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach Grading

## 4.2.4 Faktor histologische Subtypen im relativen Überleben

Es ließen sich in der Kaplan-Meier-Kurve und dem nachfolgenden Log-rank-Test signifikante Unterschiede für das relative Überleben in den drei Subgruppen der histologischen Klassifikation finden (siehe Tabelle 28, Abbildung 22). Die Kaplan-Meier-Kurven zeigten, dass Patientinnen mit muzinösen Tumoren im Vergleich zu den Patientinnen mit Tumoren anderer Histologie ein schlechteres Überleben hatten.

Vergleich der Konfidenzintervalle des relativen Überlebens nach einem Jahr:

<i>Seröse Karzinome:</i>	86,5%	(81,1 – 90,6%)
<i>Endometrioid Karzinome:</i>	92,4%	(72,3 – 98,8%)
<i>Muzinöse Karzinome:</i>	37,8%	(6,2 – 71,5%)
<i>Andere Karzinome:</i>	83,0%	(53,1 – 95,5%)

Es lebten nach einem Jahr prozentual signifikant weniger Patientinnen mit muzinösen Tumoren als Patientinnen mit Tumoren anderer Histologie.

Allerdings ist die Gruppe „muzinöse Karzinome“ mit einer Fallzahl von sechs Patientinnen im Vergleich zu den anderen Gruppen sehr klein. Da nach zwei Jahren bereits alle Patientinnen mit Karzinomen muzinöser Histologie verstorben waren, ist ein Vergleich des relativen Überlebens zu weiteren Zeitpunkten nicht möglich.

	<b>Chi-Quadrat</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>Sig.</b>
<b>Log-rank</b>	24,5137	3	<0,001

*Tabelle 28 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach histologischem Subtyp*

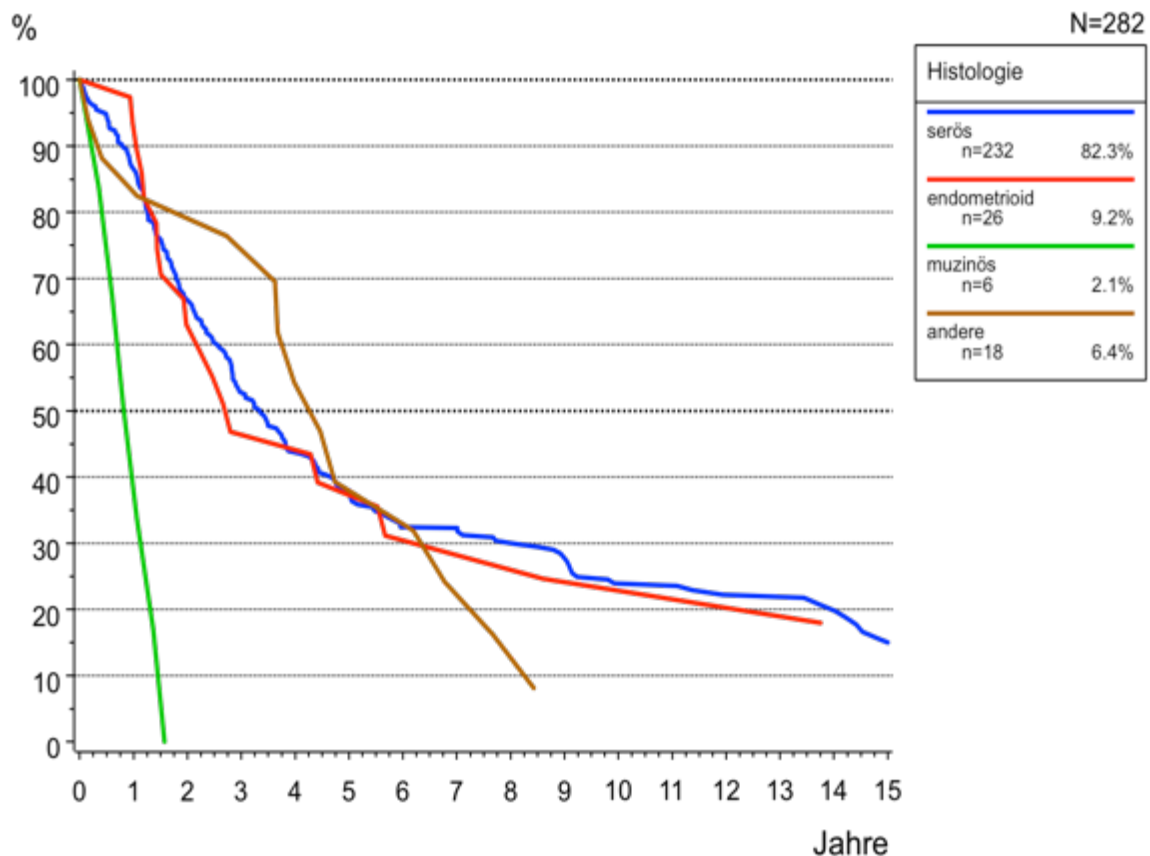


Abbildung 22 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach histologischem Subtyp

#### 4.2.5 Faktor Rezeptorexpression im relativen Überleben

##### 4.2.5.1 $ER\alpha$

Der Grad der  $ER\alpha$ -Expression hatte keinen signifikanten Einfluss auf das relative Überleben, weder bei der Analyse des gesamten Zeitraums (Chi-Quadrat = 1,0067; df=3; p=0,7996) noch zu spezifischen Zeitpunkten.

##### 4.2.5.2 PR

Es konnte mit Hilfe des Log-rank-Tests eine Signifikanz für den Zusammenhang zwischen der PR-Expression und dem relativen Überleben berechnet werden (siehe Tabelle 29). Die Kaplan-Meier-Kurven in Abbildung 23 verdeutlichen, dass Patientinnen mit mäßig und stark positiv eingestuften Tumoren ein besseres Überleben hatten als jene mit schwach positiven und negativen Tumoren. Der Vergleich der Konfidenzintervalle der 5-Jahres-Überlebensraten unterstützte dies:

## Ergebnisse

*negativ:* 33,5% (26,2 - 41,1%)

*schwach positiv:* 28,6% (16,0 – 42,7%)

*mäßig positiv:* 50,0% (27,1 – 69,9%)

*stark positiv:* 75,1% (43,5 – 91,9%)

Die als stark PR-positiv eingestuften Patientinnen hatten mit 75,1% ein signifikant besseres Überleben als die PR-negativen und nur schwach PR-positiven Patientinnen ( $p < 0,05$ ). Ein signifikanter Unterschied zwischen den stark positiven und mäßig positiven Patientinnen konnte aufgrund der überlappenden Konfidenzintervalle nicht konstatiert werden.

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	11,2774	3	0,0103

Tabelle 29 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach PR-Expression

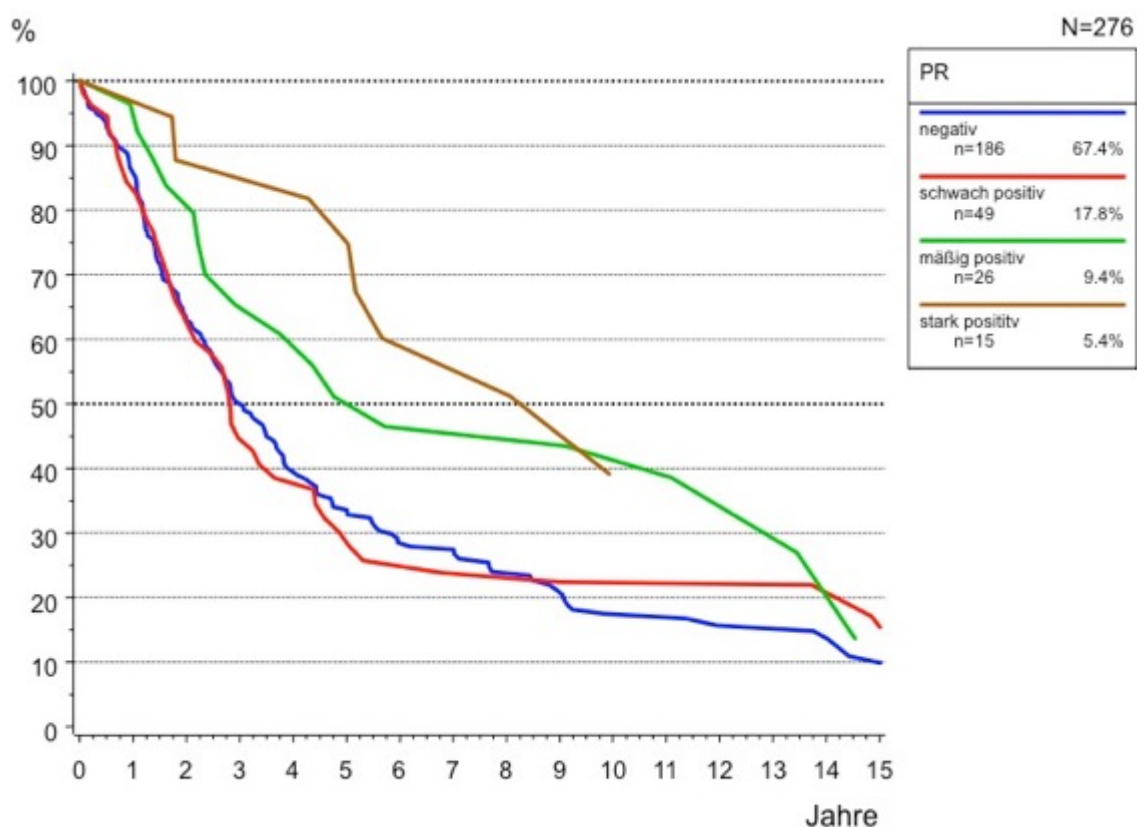


Abbildung 23 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach PR-Expression

### 4.2.5.3 Her2/neu

Es gab keine signifikanten Unterschiede in der relativen Überlebensrate zwischen Patientinnen unterschiedlicher Her2/neu-Expressionsstärke (Chi-Quadrat = 2,2726; df=3; p=0,5178). Die Berechnung erwies sich als statistisch schwierig wegen der geringen Fallzahlen in den positiven Her2/neu-Gruppen. Es konnte auch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Her2/neu-Expression und dem relativen Überleben zu einem bestimmten Zeitpunkt hergestellt werden.

Die erste Patientin mit einem stark Her2/neu-exprimierenden Tumor verstarb tumorabhängig nach 36 Monaten. Sie hatte ein seröses Karzinom im FIGO-Stadium III. Die zweite Patientin, deren Tumor Her2/neu stark exprimierte, lebte 17 Monate. Ihre Todesursache ist unbekannt. Es handelte sich um ein endometrioides Karzinom im FIGO-Stadium III. Für die Patientin mit einem mäßig positiv Her2/neu-exprimierenden Tumor fehlte das endgültige Follow-Up. Zum Zeitpunkt des letzten registrierten Follow-Ups lebte die Patientin bereits sechs Jahre nach Diagnosestellung. Sie hatte ein mäßig differenziertes, dem FIGO-Stadium I entsprechendes, endometrioides Karzinom. Tabelle 30 fasst alle Tumormerkmale und das Überleben der Patientinnen zusammen.

	<b>Patientin 1</b>	<b>Patientin 2</b>	<b>Patientin 3</b>
<b>Her2/neu-Expression</b>	(stark) positiv	(stark) positiv	mäßig positiv
<b>Histologie</b>	serös	endometrioid	endometrioid
<b>FIGO-Stadium</b>	III	III	I
<b>Grading</b>	3	2	2
<b>Follow-Up</b>	tumorabhängig verstorben	verstorben, Ursache unbekannt	fehlt
<b>Überleben</b>	36 Monate	17 Monate	unbekannt (mind. 72 Monate)

*Tabelle 30 Follow-Up und Tumorklassifikation der Her2/neu-positiven Patientinnen*

Somit lag die Überlebenszeit von Patientin 1 und Patientin 2 unter dem Durchschnitt des gesamten Kollektivs (55 Monate). Patientin 3 hingegen lebte länger als der Durchschnitt des untersuchten Kollektivs.

#### 4.2.5.4 GPER

Es gab einen signifikanten Zusammenhang zwischen der GPER-Expression und dem relativen Überleben (siehe Tabelle 31). Der manuelle Vergleich der Überlebensraten mit ihren 95%-Konfidenzintervallen einzelner Zeitpunkte ergab jedoch keine signifikanten Ergebnisse. Die rein optische Betrachtung der Kaplan-Meier-Kurven in Abbildung 24 und der Vergleich der Überlebensraten gaben den Hinweis, dass die als stark positiv und negativ eingestuften Patientinnen tendenziell eine bessere Überlebensrate hatten als die als schwach und mäßig positiv eingestuften Patientinnen.

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	8,0286	3	0,0454

Tabelle 31 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach GPER-Expression

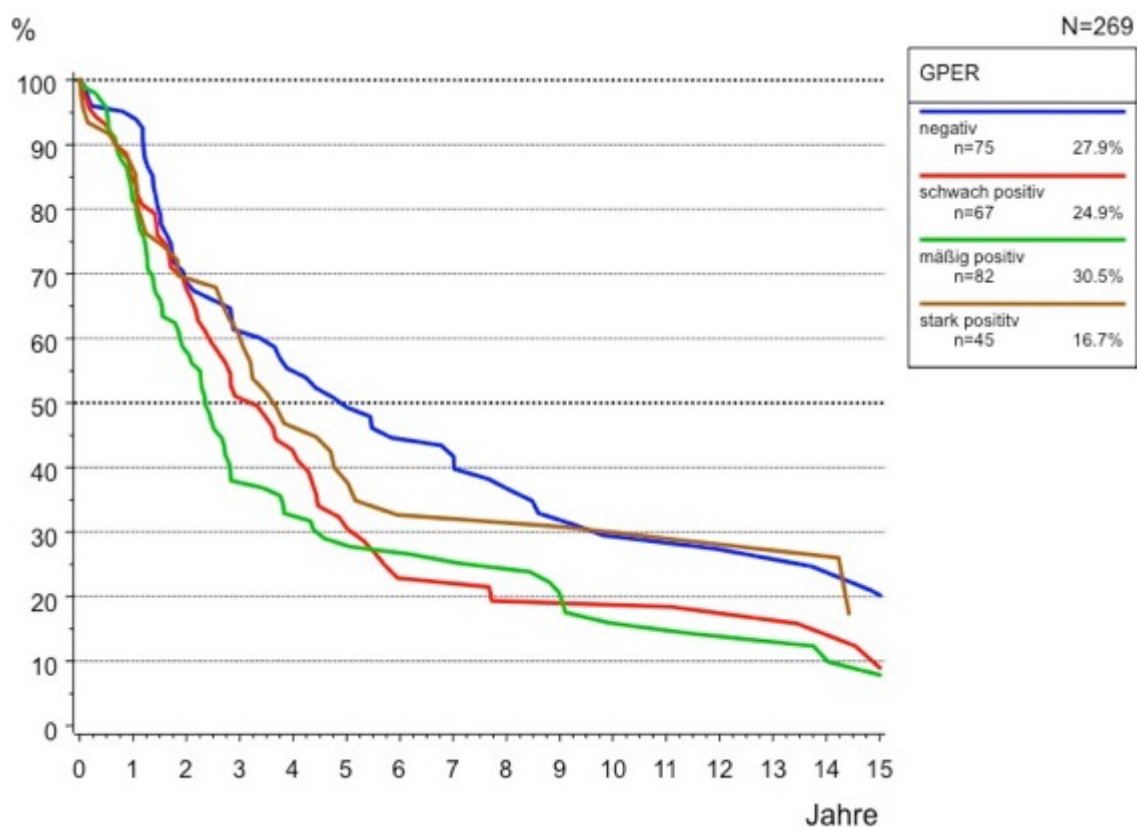


Abbildung 24 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach GPER-Expression



Um zu überprüfen, worin sich die beiden Gruppen aus schwach und mäßig GPER-positiven Karzinomen auf der einen Seite und negativen sowie stark GPER-positiven Karzinomen auf der anderen Seite unterschieden, wurden sie mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich ihrer Expression für die übrigen sechs Rezeptoren verglichen.

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Expression von Gal-7 zwischen den beiden Gruppen. Die Gruppe der schwach und mäßig positiven Tumoren exprimierte mehr Gal-7 als die Gruppe der negativen und stark positiven Tumoren. Des Weiteren gab es eine Tendenz dahin, dass schwach und mäßig GPER-exprimierende Tumoren ER $\alpha$  stärker exprimierten als ihre Gegengruppe. Dieses Ergebnis war jedoch nicht signifikant (siehe Tabelle 32).

GPER-Expression	ER $\alpha$	PR	Her2/neu	Gal-7	FSHR	LHR
<b>Negativ und stark positiv</b>	124,59	133,53	141,93	<b>125,37*</b>	126,89	129,33
<b>Schwach und mäßig positiv</b>	140,18	144,03	139,40	<b>147,49*</b>	141,98	137,43
<b>Asymptotische Sign.</b>	0,099	0,269	0,442	<b>0,017</b>	0,112	0,391

*Tabelle 32 Vergleich der beiden GPER-Gruppen negativ/stark positiv und schwach/mäßig positiv hinsichtlich ihrer Expression der anderen sechs Rezeptoren mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests (angegeben ist jeweils der mittlere Rang, signifikante Ergebnisse sind hervorgehoben, \*Unterschied auf dem 0,05-Signifikanzniveau)*

#### 4.2.5.5 Gal-7

Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Gal-7-Expression und dem relativen Überleben der Patientinnen (Chi-Quadrat = 2,8726; df=3; p=0,4117). Auch die Überlebensraten definierter Zeitpunkte unterschieden sich in den Gal-7-Klassen nicht signifikant.

## 4.2.5.6 FSHR

Die FSHR-Expression hatte einen signifikanten Einfluss (5%-Signifikanzniveau) auf das relative Überleben. Vergleiche hierzu Abbildung 25 und Tabelle 33.

5-Jahres-Überlebensrate und deren 95%-Konfidenzintervalle:

<i>negativ:</i>	46,0%	(36,2 – 55,3%)
<i>schwach positiv:</i>	27,2%	(15,2 – 40,8%)
<i>mäßig positiv:</i>	26,8%	(14,8 – 40,6%)
<i>stark positiv:</i>	13,2%	(3,4 – 30,4%)

Der Vergleich dieser Überlebensraten zeigte, dass es einen signifikanten Unterschied (5%-Signifikanzniveau) im relativen Überleben der Patientinnen mit FSHR-negativen und stark FSHR-positiven Tumoren gab. Die Patientinnen mit stark positiven Tumoren zeigten eine signifikant schlechtere Überlebensrate als jene mit FSHR-negativen Tumoren. Bei beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied zu den schwach positiven und den mäßig positiven Tumoren gefunden werden. Diese beiden Gruppen hatten ähnliche Konfidenzintervalle, die wahrscheinlichsten Raten des relativen Überlebens lagen zwischen jenen der FSHR-negativen und stark FSHR-positiven Gruppen. Die 10-Jahres-Überlebensraten konnten nicht miteinander verglichen werden, da kein Patient der Gruppe „stark positiv“ diesen Zeitpunkt erreicht hatte.

	<b>Chi-Quadrat</b>	<b>Freiheitsgrade</b>	<b>Sig.</b>
<b>Log-rank</b>	9,1410	3	0,0275

*Tabelle 33 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach FSHR-Expression*

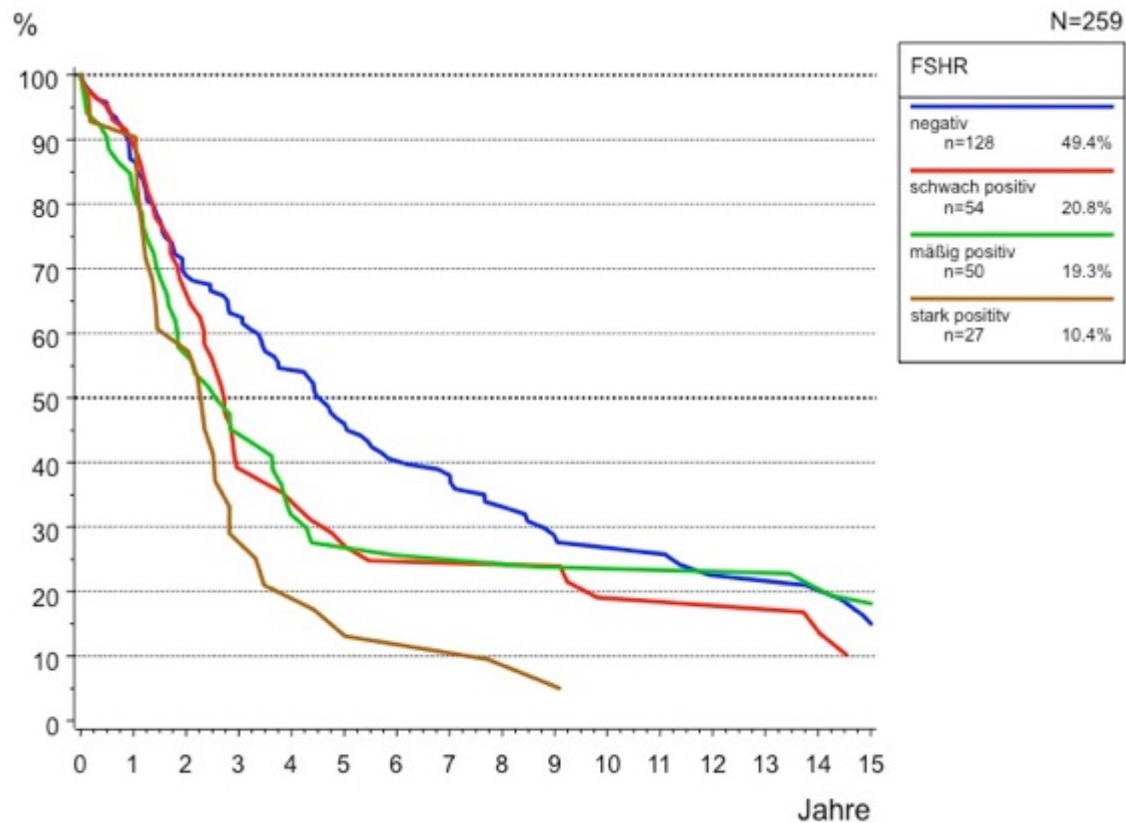


Abbildung 25 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FSHR-Expression

#### 4.2.5.7 LHR

Die Berechnung des Log-rank-Testes ergab, dass es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der LHR-Expression auf der einen Seite und dem relativen Überleben der Patientinnen über den gesamten Beobachtungszeitraum auf der anderen Seite gab (Chi-Quadrat = 1,8806; df=3; p=0,5976). Jedoch gab es einen signifikanten Unterschied in den 5-Jahres-Überlebensraten:

<i>negativ:</i>	35,2%	(25,4 – 45,4%)
<i>schwach positiv:</i>	39,1%	(28,4 – 49,9%)
<i>mäßig positiv:</i>	30,2%	(18,0 – 43,4%)
<i>stark positiv:</i>	13,5%	(1,1 – 19,1%)

Der Vergleich der Konfidenzintervalle zeigte, dass Patientinnen mit einer stark positiven LHR-Expression im Tumor ein signifikant ( $p < 0,05$ ) schlechteres Überleben hatten als Patientinnen mit LHR-negativen und schwach LHR-positiven Tumoren. Abbildung 26

verdeutlicht dies. Eine 10-Jahres-Überlebensrate konnte wegen der geringen Fallzahl für die „stark positiv“-Untergruppe nicht berechnet werden.

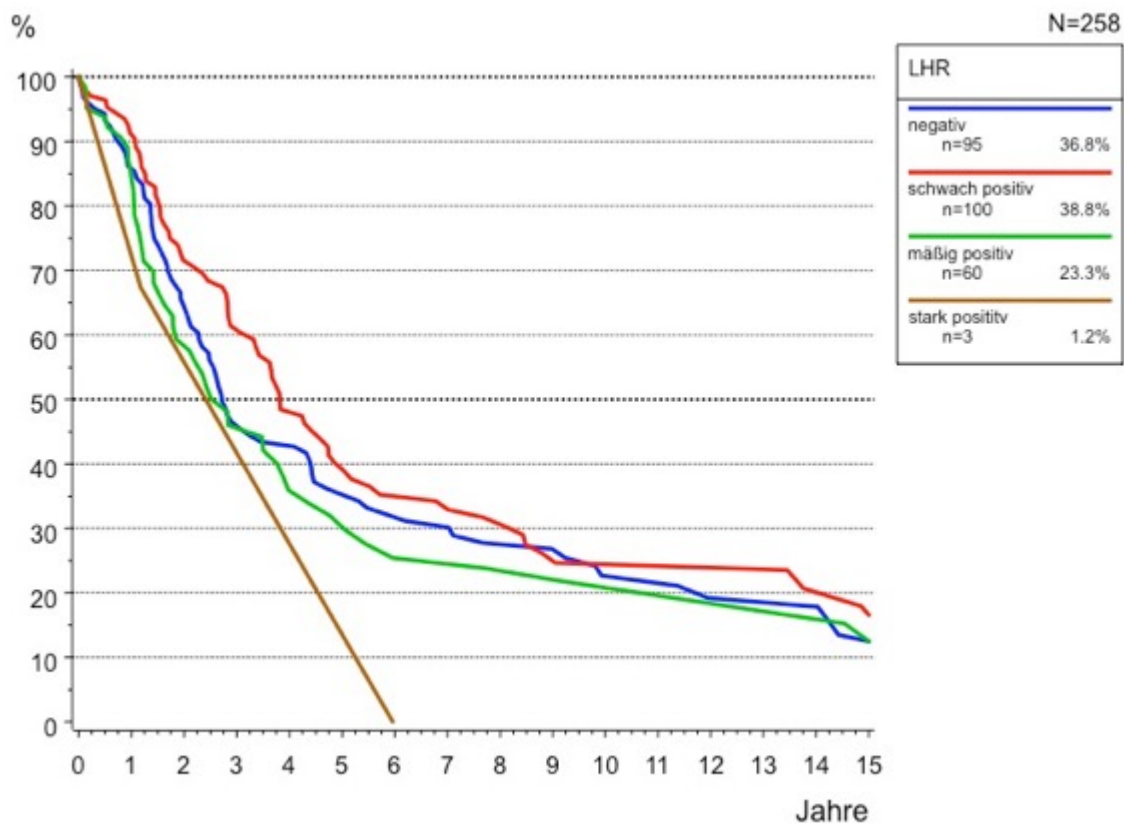


Abbildung 26 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach LHR-Expression

### 4.2.6 Relatives Überleben und Rezeptorkombinationen

Für die Untersuchung, ob bestimmte Rezeptorkombinationen Auswirkungen auf das relative Überleben hatten, wurden die Expressionsklassen in Rezeptor-positiv und Rezeptor-negativ zusammengefasst. Die Rezeptor-negative Gruppe umfasste alle Gewebestancen, die mit einem IRS von 0-2 oder einer negativen Her2/neu-Expression bewertet worden waren. Die Rezeptor-positive Gruppe enthielt die Gewebestancen, deren Rezeptorexpression mit einem IRS größer als 2 oder einer positiven Her2/neu-Expression bewertet worden waren. Untersucht wurden die nachfolgenden Kombinationen:

- ER $\alpha$  und GPER
- ER $\alpha$  und Gal-7
- PR und GPER
- PR und Gal-7
- FSHR und GPER
- FSHR und Gal-7
- LHR und GPER
- LHR und Gal-7

### 4.2.6.1 ER $\alpha$ – GPER

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem relativen Überleben und dem ER $\alpha$ /GPER-Expressionsprofil gefunden werden (Spearman's Rho = 5,4864; df=3; p=0,1395).

Analog dazu lieferte das Cox Proportional Hazard Modell keine signifikanten Unterschiede in den Hazard-Raten der unterschiedlichen Expressionsprofile im Vergleich zur Referenzgruppe ER $\alpha$ -/GPER-.

### 4.2.6.2 ER $\alpha$ – Gal-7

Zwischen dem ER $\alpha$ /Gal-7-Expressionsprofil und der relativen Überlebensrate gab es einen signifikanten Zusammenhang (0,05-Signifikanzniveau), siehe Tabelle 34.

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	8,7410	3	0,0329

*Tabelle 34 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach ER $\alpha$ /Gal-7-Expression*

Die Kaplan-Meier-Kurven (siehe Abbildung 27) zeigten, dass ER $\alpha$ -negative/Gal-7-negative Patientinnen ein schlechteres Überleben aufwiesen als die anderen drei Gruppen, vor allen Dingen im Vergleich zur Gruppe der ER $\alpha$ -positiven/Gal-7-negativen Patientinnen. Da aufgrund der kleinen Zahl an Tumoren, die als ER $\alpha$ -negativ/Gal-7-negativ (n=7) eingestuft worden waren, keine 10-Jahres-Überlebensrate berechnet werden konnte und die Konfidenzintervalle sehr breit waren, wurde als ungewöhnliches Maß die 8-Jahres-Überlebensrate für den weiteren Vergleich verwendet:

## Ergebnisse

$ER\alpha+/Gal-7+$ :	27,5%	(19,5 – 36,2%)
$ER\alpha+/Gal-7-$ :	40,7%	(14,4 – 68,4%)
$ER\alpha-/Gal-7+$ :	28,9%	(18,5 – 40,4%)
$ER\alpha-/Gal-7-$ :	2,8%	( 0,1 – 9,2%)

Hieraus war ersichtlich, dass  $ER\alpha$ -negative und Gal-7-negative Patientinnen ein signifikant schlechteres Überleben als die anderen drei Patientengruppen hatten.

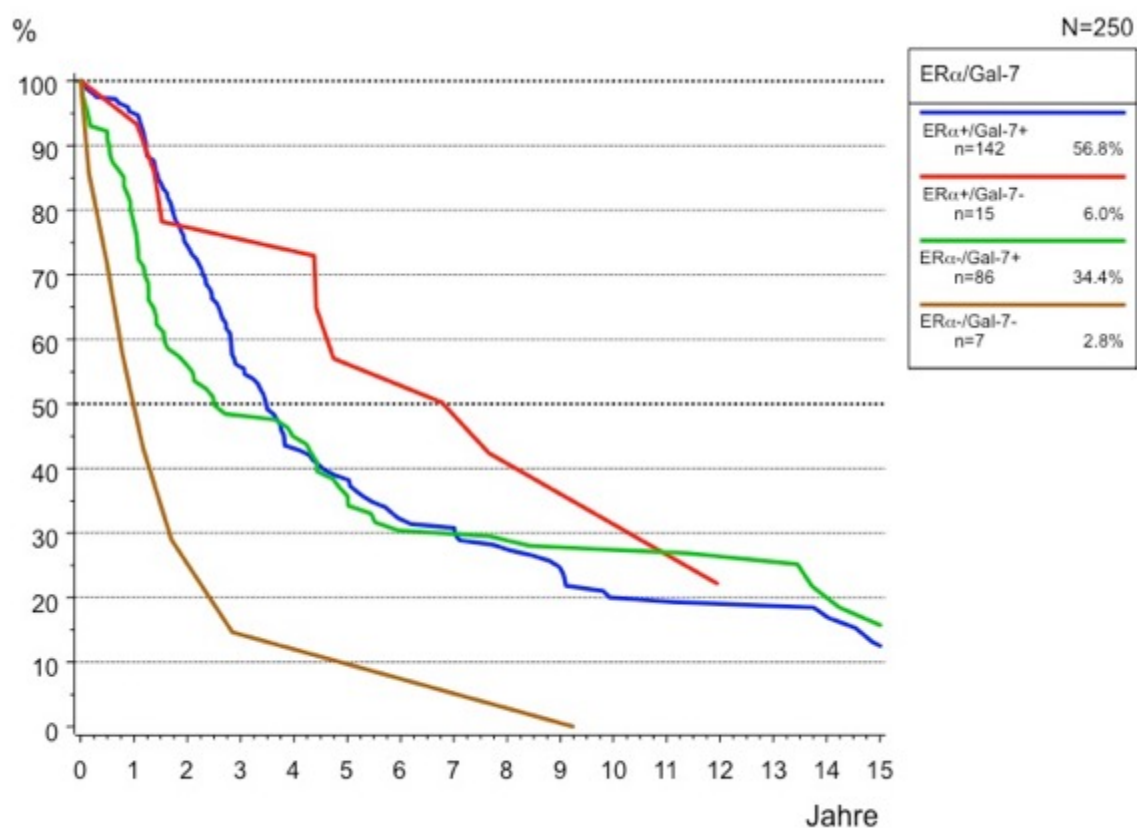


Abbildung 27 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach  $ER\alpha$ /Gal-7-Expression

Die Berechnung des Cox Proportional Hazard Modells lieferte konkordante Ergebnisse. Im Vergleich zu den drei anderen Gruppen hatten doppelt Rezeptor-negative Patientinnen das größte Risiko den Endpunkt Tod zu erreichen. Besonders groß war der Unterschied bei dem Vergleich der  $ER\alpha$ -positiven/Gal-7-negativen Patientinnen zur Referenzgruppe: Sie hatten ein 0,2faches Sterberisiko (siehe Tabelle 35).

	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)
<b>ER<math>\alpha</math>-/Gal-7-</b>			8,129	3	0,043	
<b>ER<math>\alpha</math>+ /Gal-7-</b>	-1,409	0,506	7,762	1	0,005	0,244
<b>ER<math>\alpha</math>-/Gal-7+</b>	-0,828	0,400	4,294	1	0,038	0,437
<b>ER<math>\alpha</math>+ /Gal-7+</b>	-0,908	0,391	5,401	1	0,020	0,403

Tabelle 35 Cox-Regressionsanalyse der ER $\alpha$ /Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen ER $\alpha$ /Gal-7-Referenzgruppe

#### 4.2.6.3 PR – GPER

Wie Tabelle 36 zeigt war das PR/GPER-Expressionsprofil ein hochsignifikanter Faktor für die relative Überlebensrate (0,01-Signifikanzniveau). Die Kaplan-Meier-Kurven zeigten, dass PR-negative/GPER-positive Patientinnen das schlechteste relative Überleben im Vergleich zu den weiteren Gruppen hatten (siehe Abbildung 28).

5-Jahres-Überlebensraten mit Konfidenzintervallen:

PR+/GPER+: 44,7% (31,2 – 57,7%)

PR+/GPER-: 46,7% (23,2 – 68,3%)

PR-/GPER+: 25,3% (17,6 – 33,8%)

PR-/GPER-: 52,0% (35,1 – 67,1%)

Der Vergleich der Konfidenzintervalle verdeutlichte, dass PR-negative/GPER-positive Patientinnen ein signifikant schlechteres Überleben zeigten als solche Patientinnen, die PR-negativ und GPER-negativ waren.

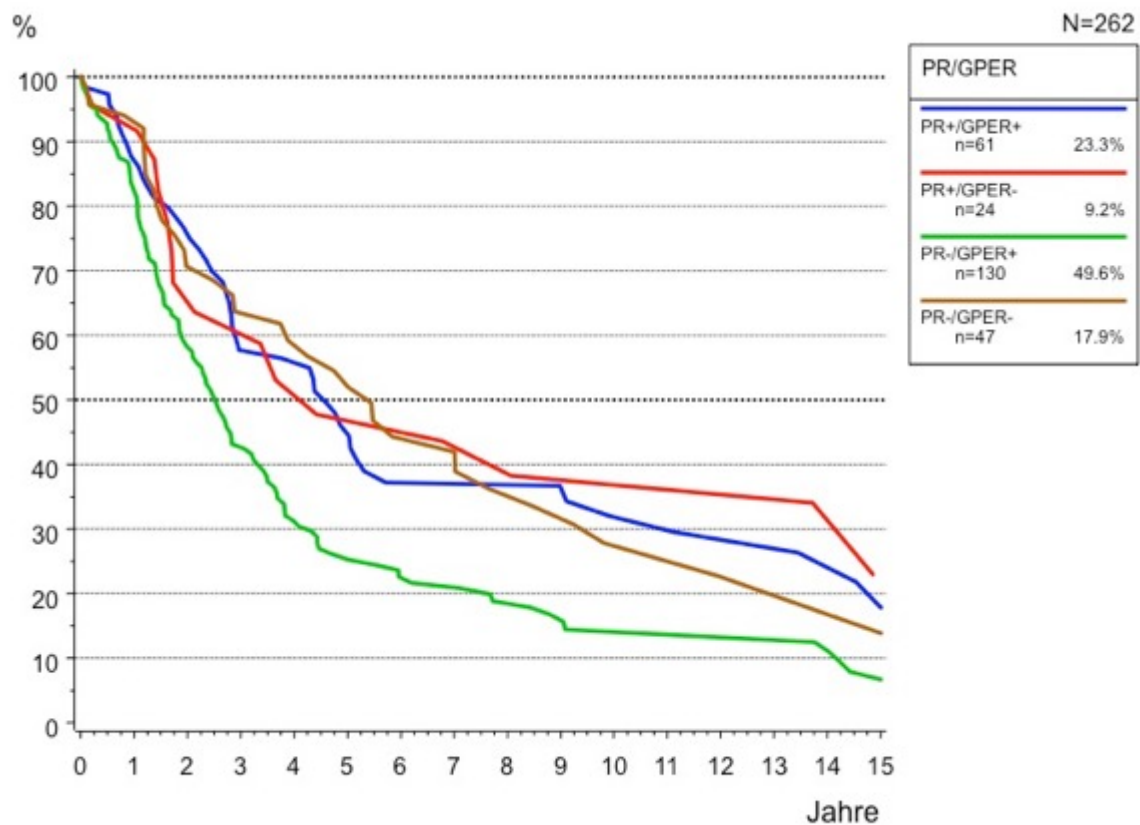


Abbildung 28 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach PR/GPER-Expression

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	15,4452	3	0,0015

Tabelle 36 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach PR/GPER-Expression

Das Cox Proportional Hazard Modell erbrachte konkordante Ergebnisse: Die Rezeptorkonstellation PR-negativ/GPER-positiv bedeutete für die Patientinnen ein 1,7mal so hohes Sterbe-Risiko zu haben wie doppelt-negative Patientinnen (siehe Tabelle 37).



	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)
<b>PR-/GPER-</b>			14,880	3	0,002	
<b>PR+/GPER-</b>	-0,070	0,314	0,049	1	0,825	0,933
<b>PR-/GPER+</b>	0,552	0,202	7,474	1	0,006	1,737
<b>PR+/GPER+</b>	0,035	0,231	0,023	1	0,879	1,036

*Tabelle 37 Cox-Regressionsanalyse der PR/GPER-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen PR/GPER-Referenzgruppe*

#### 4.2.6.4 PR – Gal-7

Es gab über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg einen auf dem 0,05-Signifikanzniveau signifikanten Zusammenhang zwischen dem relativen Überleben und der Expression von PR/Gal-7 (siehe Tabelle 38). Ein punktuell signifikanter Unterschied im relativen Überleben zwischen den verschiedenen Expressionsklassen war anhand der 95%-Konfidenzintervalle nicht zu finden. Die Kaplan-Meier-Kurven (siehe Abbildung 29) zeigten, dass insgesamt betrachtet zweifach positive und zweifach negative Patientinnen ein besseres Überleben aufwiesen als solche mit den Konstellationen PR-negativ/Gal-7-positiv und PR-positiv/Gal-7-negativ.

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	8,2599	3	0,0409

*Tabelle 38 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach PR/Gal-7-Expression*

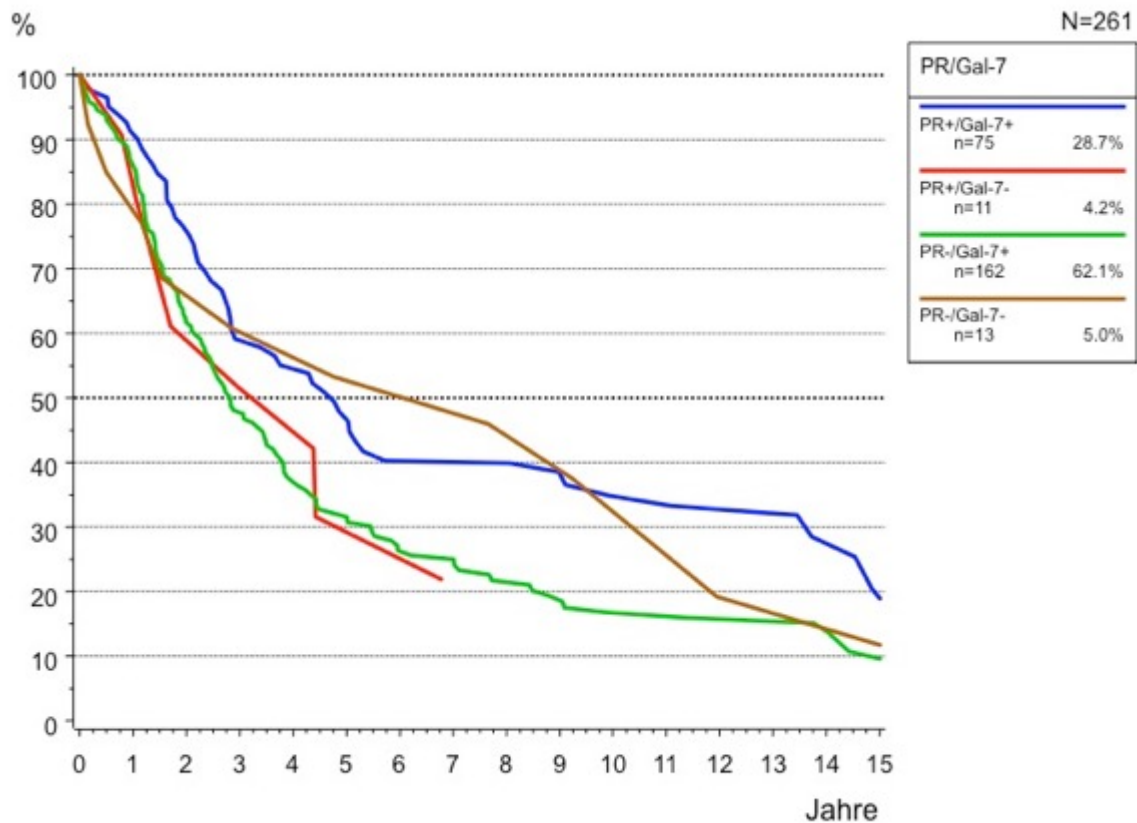


Abbildung 29 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach PR/Gal-7-Expression

Das Cox Proportional Hazard Modell konnte die oben beschriebenen Ergebnisse nicht bestätigen. Das Risiko der drei Patientengruppen mit positiver Expression von mindestens einem Rezeptor im Tumor unterschied sich nicht signifikant von der doppelt-negativen Referenzgruppe, siehe Tabelle 39.

	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)
PR-/Gal-7-			7,933	3	0,047	
PR+/Gal-7-	0,182	0,478	0,146	1	0,702	1,200
PR-/Gal-7+	0,446	0,333	1,793	1	0,181	1,562
PR+/Gal-7+	0,016	0,348	0,002	1	0,964	1,016

Tabelle 39 Cox-Regressionsanalyse der PR/Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen PR/Gal-7-Referenzgruppe

#### 4.2.6.5 FSHR – GPER

Es gab einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem relativen Überleben und der GPER-Expression bei FSHR-positiven bzw. FSHR-negativen Patientinnen (siehe Tabelle 40). Aus den Kaplan-Meier-Kurven war bereits ersichtlich, dass GPER- und FSHR-positive Patientinnen das schlechteste Überleben im Gesamtkollektiv zeigten (siehe Abbildung 30). Vergleich der 5-Jahres-Überlebensraten:

FSHR+/GPER+:	21,1%	(13,2 – 30,4%)
FSHR+/GPER-:	36,6%	(17,9 – 56,3%)
FSHR-/GPER+:	41,6%	(30,0 – 53,0%)
FSHR-/GPER-:	55,5%	(37,4 – 70,9%)

Doppelt Rezeptor-positive Patientinnen zeigten ein signifikant schlechteres Überleben als doppelt Rezeptor-negative Patientinnen.

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
<b>Log-rank</b>	9,1002	3	0,0280

*Tabelle 40 Überprüfung auf Signifikanz (2-seitig) der Unterschiede im relativen Überleben stratifiziert nach FSHR/GPER-Expression*

Das Cox Proportional Hazard Modell bestätigte die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse. Doppelt Rezeptor-positive Patientinnen hatten ein 1,8fach höheres Risiko zu versterben als doppelt Rezeptor-negative Patientinnen. Vergleiche hierzu Tabelle 41.

	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)
<b>FSHR-/GPER-</b>			8,839	3	0,032	
<b>FSHR+/GPER-</b>	0,216	0,289	0,557	1	0,456	1,241
<b>FSHR-/GPER+</b>	0,274	0,226	1,465	1	0,226	1,315
<b>FSHR+/GPER+</b>	0,587	0,219	7,199	1	0,007	1,799

*Tabelle 41 Cox-Regressionsanalyse der FSHR/GPER-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen FSHR/GPER-Referenzgruppe*

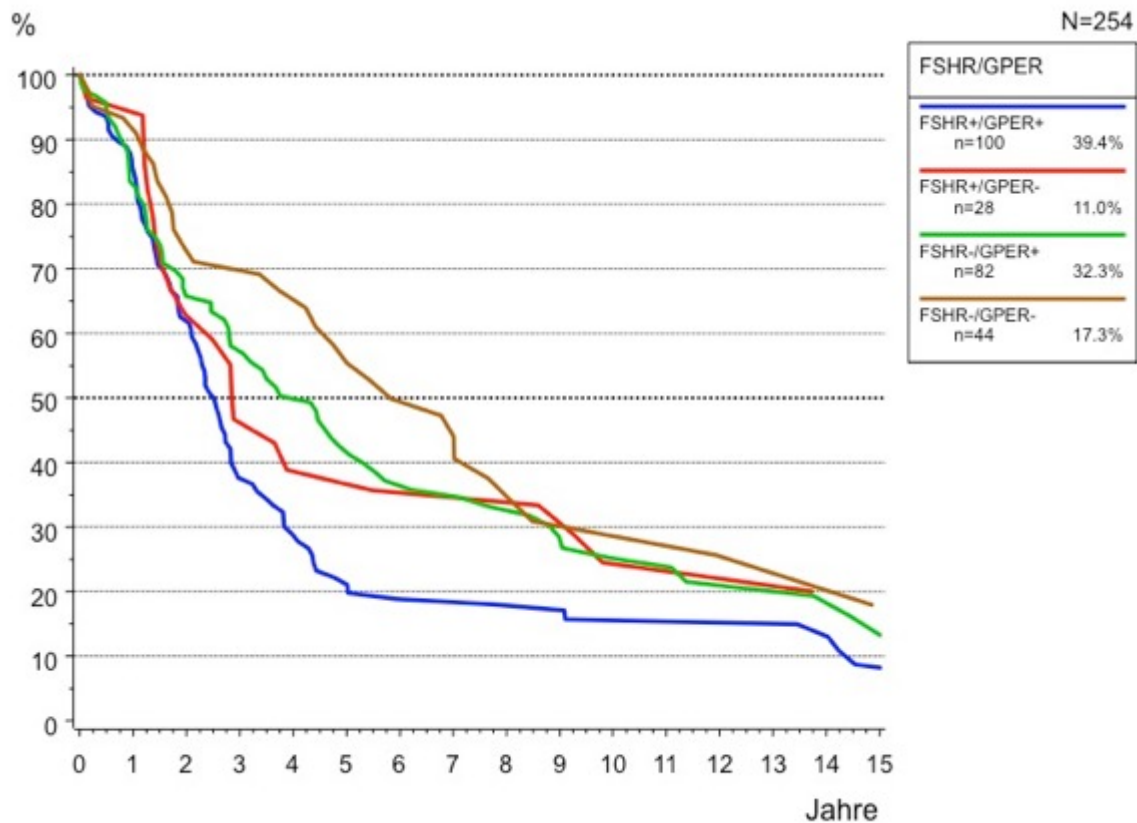


Abbildung 30 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FSHR/GPER-Expression

#### 4.2.6.6 FSHR – Gal-7

Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem relativen Überleben der Patientinnen und der FSHR/Gal-7-Expression der entsprechenden Karzinome (Spearman's Rho = 5,2804; df=3; p=0,1524). Wie jedoch die Kaplan-Meier-Kurven andeuteten (siehe Abbildung 31) ergab der Vergleich der 95%-Konfidenzintervalle, dass es einen signifikanten Unterschied in der 5-Jahres-Überlebensrate zwischen FSHR-positiven/Gal-7-positiven und FSHR-negativen/Gal-7-positiven Patientinnen gab.

FSHR+/Gal-7+:	24,1%	(16,3 – 33,0%)
FSHR+/Gal-7-:	24,8%	(3,5 – 57,5%)
FSHR-/Gal-7+:	47,0%	(36,4 – 57,0%)
FSHR-/Gal-7-:	47,9%	(19,6 – 73,0%)

Die Rezeptorkonstellation FSHR-positiv/Gal-7-positiv bedeutete eine signifikant schlechtere Überlebensprognose zu haben als die Rezeptorkonstellation FSHR-negativ/Gal-7-positiv.

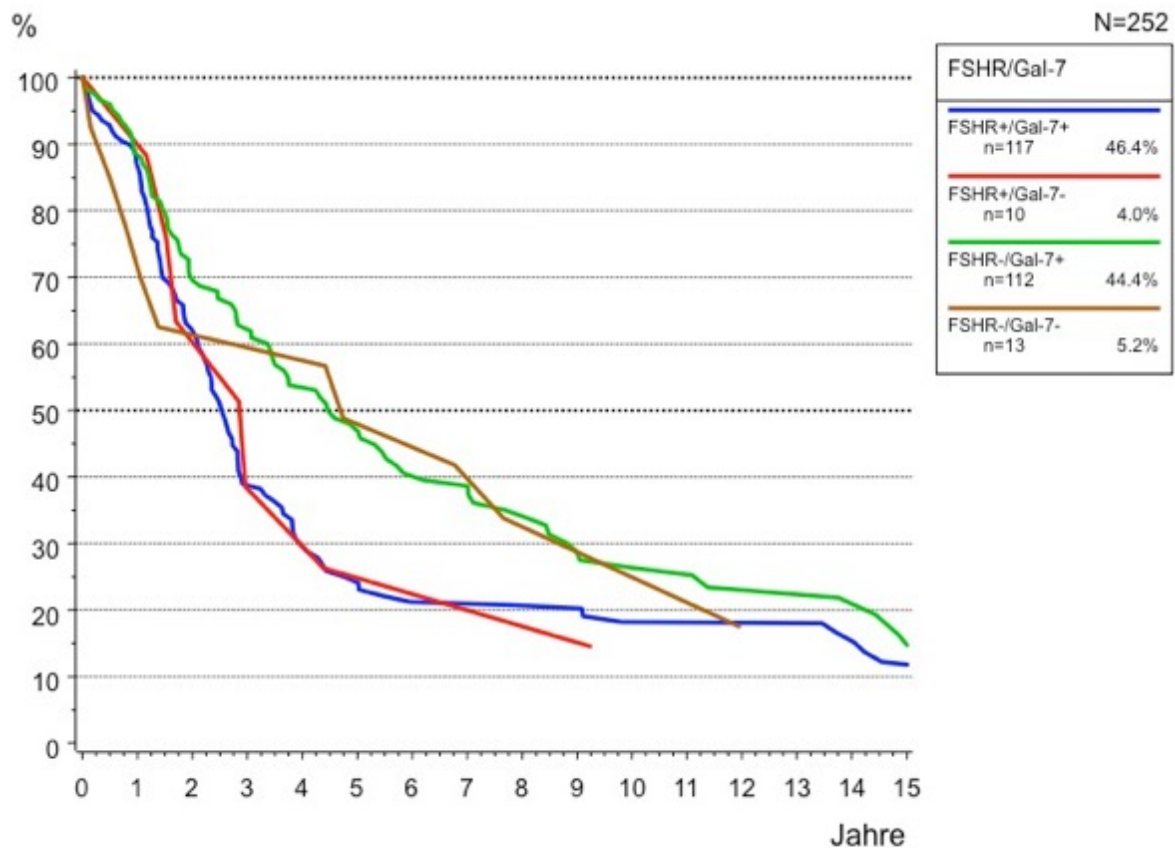


Abbildung 31 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach FSHR/Gal-7-Expression

Da das Cox-Modell das Risiko in Bezug auf die doppelt-negativen Patientinnen berechnete, konnten die oben genannten Ergebnisse nicht bestätigt werden. Ferner konnten keine weiteren signifikanten Risikounterschiede gefunden werden (siehe Tabelle 42).

	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)
<b>FSHR-Gal-7-</b>			5,150	3	0,161	
<b>FSHR+/Gal-7-</b>	0,312	0,494	0,400	1	0,527	1,367
<b>FSHR-/Gal-7+</b>	0,096	0,336	0,082	1	0,775	1,101
<b>FSHR+/Gal-7+</b>	0,414	0,333	1,542	1	0,214	1,512

Tabelle 42 Cox-Regressionsanalyse der FSHR/Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen FSHR/Gal-7-Referenzgruppe

#### 4.2.6.7 LHR – GPER

Im Log-rank-Test konnte keine signifikante Abhängigkeit des relativen Überlebens von der Rezeptorkonstellation aus LHR und GPER festgestellt werden (Spearman's Rho = 4,8010; df=3; p=0,1870). Die Kaplan-Meier-Kurve (siehe Abbildung 32) ließ vermuten, dass doppelt Rezeptor-negative Patientinnen das beste Überleben aufwiesen. Dies konnte jedoch durch den Vergleich der Konfidenzintervalle des relativen Überlebens nicht belegt werden.

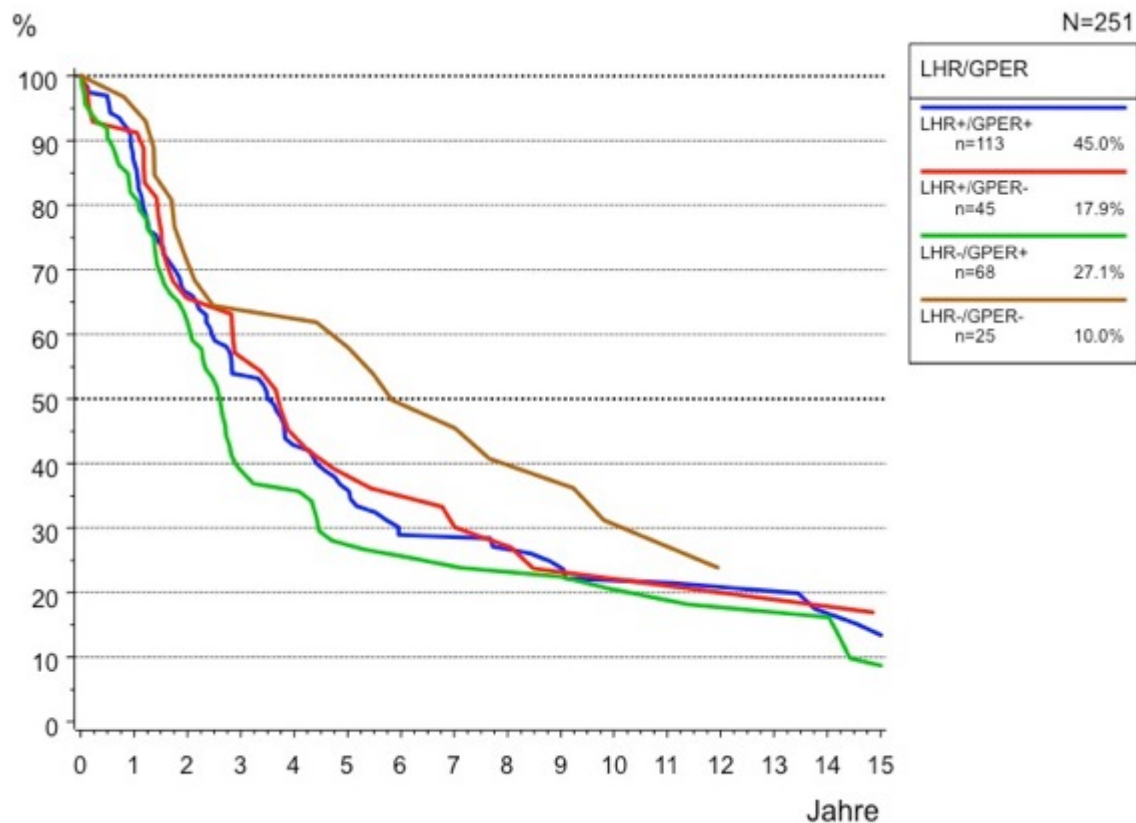


Abbildung 32 Kaplan-Meier-Kurven des relativen Überlebens stratifiziert nach LHR/GPER-Expression

Das Cox Proportional Hazard Modell bestätigte die Vermutung jedoch (siehe Tabelle 43). Die Hazard-Ratios wiesen darauf hin, dass die Referenzgruppe (LHR-negativ/GPER-negativ) das geringste Risiko hatte zu sterben. Signifikant war dies jedoch nur in der Hazard-Ratio der Referenzgruppe zur Gruppe der LHR-negativen, GPER-positiven Patientinnen. Diese LHR-negativen/GPER-positiven Patientinnen hatten ein 1,7faches Risiko zu sterben.

	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)
<b>LHR-/GPER-</b>			4,726	3	0,193	
<b>LHR+/GPER-</b>	0,241	0,301	0,645	1	0,422	1,273
<b>LHR-/GPER+</b>	0,543	0,269	4,062	1	0,044	1,721
<b>LHR+/GPER+</b>	0,381	0,260	2,155	1	0,142	1,464

*Tabelle 43 Cox-Regressionsanalyse der LHR/GPER-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen LHR/GPER-Referenzgruppe*

#### 4.2.6.8 LHR – Gal-7

Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Gal-7-Expression bei LHR-positiven und –negativen Patientinnen und deren relativem Überleben (Spearman's Rho = 2,2159; df=3; p=0,5288).

Auch das Cox Proportional Hazard Modell konnte keine signifikanten Unterschiede bei den Hazard-Ratios der Patientengruppen im Vergleich zur Referenzgruppe (LHR-negativ/Gal-7-negativ) aufzeigen (siehe Tabelle 44).

	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)
<b>LHR-/Gal-7-</b>			2,201	3	0,532	
<b>LHR+/Gal-7-</b>	0,481	0,501	0,921	1	0,337	1,618
<b>LHR-/Gal-7+</b>	0,440	0,374	1,381	1	0,240	1,552
<b>LHR+/Gal-7+</b>	0,276	0,367	0,567	1	0,451	1,318

*Tabelle 44 Cox-Regressionsanalyse der LHR/Gal-7-Expressionskonstellationen im Vergleich zur doppelt-negativen LHR/Gal-7-Referenzgruppe*

## **5 Diskussion**

### **5.1 Einführung**

Das Ovarialkarzinom ist der achthäufigste maligne Tumor bei Frauen in Deutschland. Obwohl in den letzten Jahrzehnten viele neue Erkenntnisse über die Ätiologie, die Pathogenese und die Risikofaktoren erlangt wurden, hat sich das Therapieregime nur wenig verändert und basiert vorrangig auf der operativen Entfernung der befallenen Areale und der anschließenden CTx. Im Gegensatz zu anderen malignen Erkrankungen wie dem Mammakarzinom gibt es bislang nur wenige Therapieoptionen, die individuell auf die Tumoreigenschaften der Patientin eingehen. Der einzige vielversprechende Erfolg der letzten Jahre war die Etablierung der PARP-Inhibitoren, beginnend mit Olaparib im Dezember 2014 im Therapieregime von Rezidiven Platin-sensitiver, high-grade seröser, BRCA-mutierter Ovarialkarzinome [95], gefolgt von der EU-Zulassung von Niraparib 2017, welches in der Erhaltungstherapie von Rezidiven platinsensitiver, gering differenzierter, seröser Ovarialkarzinome mit partieller oder kompletter Remission unter CTx unabhängig vom BRCA-Status eingesetzt werden darf [97]. Die Zulassung von Rucaparib ist in der EU beantragt, auch hierfür ist die aktuelle Datenlage in der Therapie von Rezidiven platinsensitiver Ovarialkarzinome nach erfolgter platinhaltiger CTx vielversprechend, unabhängig vom BRCA-Status der Patientinnen [100].

Die vorliegende Dissertation untersuchte immunhistochemisch an 305 Präparaten von Ovarialkarzinomen die Expression verschiedener Rezeptoren und deren Korrelation untereinander sowie mit klinischen Parametern. Das untersuchte Patientenkollektiv war vorselektiert und beinhaltete zum größten Teil seröse FIGO-III Ovarialkarzinome, den häufigsten histologischen Subtyp im am meisten diagnostizierten FIGO-Stadium. Die Untersuchungen hatten das Ziel Unterschiede in der Expression von ER $\alpha$ , PR, GPER, Her2/neu, Gal-7, FSHR und LHR insbesondere dieser Patientengruppe aufzudecken, um eine Erklärung für die große Heterogenität der Prognose trotz der gleichen Histologie und des gleichen FIGO-Stadiums zu finden und um aus diesen Unterschieden mögliche Strategien für eine individualisierte Therapie abzuleiten zu können.



### **5.2 Diskussion der Methoden**

#### **5.2.1 Immunhistochemische Untersuchung an TMAs**

Die immunhistochemische Untersuchung der Rezeptorexpression von Tumoren ist ein klinisch etabliertes, semi-quantitatives Verfahren, das relativ kostengünstig und gleichzeitig leicht zu erlernen ist. Mit 305 Präparaten handelte es sich bei dieser Dissertation um eine der größeren Studien zur Untersuchung der Rezeptorexpression von Ovarialkarzinompatientinnen. Die Untersuchung dieser großen Anzahl an Präparaten wurde durch das Verwenden von TMAs erleichtert.

Der Einsatz von TMAs erlaubt es eine große Anzahl an Gewebestanzen auf demselben Objektträger zu beurteilen. Dadurch gestaltet sich die immunhistochemische Färbung als preiswerter und schneller, da weniger Antikörper und Testreagenzien benötigt werden und viele Präparate parallel angefärbt werden können. Des Weiteren ermöglichen es die TMAs, dass alle Gewebestanzen eines Objektträgers gleichzeitig und unter gleichen Bedingungen mit exakt derselben Antikörperverschüttung gefärbt werden, sodass eine größtmögliche Standardisierung gewährleistet ist. All dies bedeutet, dass für Studien eine größere Kollektivzahl bei maximaler Kostenersparnis herangezogen und so die statistische Aussagekraft erhöht werden kann [182].

Dennoch sind mit dem Einsatz von TMAs auch Nachteile verbunden. Zum einen kann Material im Laufe der Untersuchungen verloren gehen, zum anderen stellt sich die Frage, ob die kleinen Gewebestanzen repräsentativ für den gesamten Tumor sind. Donati et al. zeigten in ihrer Studie an kleinzelligen Bronchialkarzinomen, dass TMAs eine hohe Spezifität (94,2%) und eine niedrige Sensitivität (69,4%) aufweisen [183]. Zur Erhöhung dieser Kriterien wurden im Rahmen dieser Dissertation TMAs verwendet, auf denen jedes Präparat durch eine doppelte Gewebestanze repräsentiert war. Ein partieller oder kompletter Verlust von Gewebestanzen ist üblich und konnte auch am Kollektiv dieser Dissertation beobachtet werden, sodass die Untersuchung auf 305 Patientinnen beschränkt war und bei einigen Patientinnen einzelne Färbungen nicht auszuwerten waren [182].

Die IHC ist ein semi-quantitatives Verfahren zur Detektion von Antigenen. Semi-quantitativ bedeutet, dass der prozentuale Anteil der immunhistochemisch positiven Zellen im Tumor geschätzt wird, sodass eine ordinalskalierte Rangfolge entsteht.

Wie im Methodenteil beschrieben wurden zur Vermeidung der intra- und interpersonellen Schwankungen alle Schnitte von ein und derselben Person an ein und demselben Tag ausgewertet und stichprobenartige Kontrollen von einer zweiten Person durchgeführt.

Eine Herausforderung bei der immunhistochemischen Färbung ist das Verwenden der adäquaten Antikörperversdünnung. Es muss stets zwischen einer guten Sensitivität und einer ausreichenden Spezifität abgewogen werden. Im Verlauf dieser Studie wurden deshalb für alle nicht-automatisierten Färbungen (GPER, Gal-7, FSHR, LHR) Testschnitte (sowohl ganze Gewebeschnitte als auch TMAs) und Negativkontrollen mit verschiedenen Antikörperversdünnungen gefärbt bis ein zufriedenstellendes Ergebnis erreicht wurde.

Zur Quantifizierung der immunhistochemisch visualisierten Antigenexpression wurden verschiedene Scores verwendet. International anerkannt ist der 1999 entwickelte Allred-Score zur Quantifizierung von ER und PR bei Mammakarzinomen [184]. In Deutschland findet nach wie vor auch der zwölfstufige Immunreaktive Score nach Remmele und Stegner Anwendung [185]. Für die immunhistochemische Beurteilung des Ovarialkarzinoms konnte sich bislang kein Score etablieren, ausdrücklich nicht für die neben ER und PR untersuchten Rezeptoren. Deshalb wurde für die Beurteilung der Patientinnen in dieser Studie der IRS für alle Rezeptoren außer Her2/neu, für welches es mit dem HercepTest in der Diagnostik von Mamma- und Magenkarzinomen ein eigenes Scoring-System gibt, gewählt. In der Literatur sind Studien mit verschiedenen Cutoffs für den IRS zu finden [186, 187]. Für diese Dissertation wurde der IRS ab einem Wert von 3 als positiv gewertet; respektive dazu wurden Werte zwischen 0 und 2 als negativ zusammengefasst. Einheitliche Scoring-Systeme und Cutoffs liegen nicht vor.

### 5.2.2 Patientenkollektiv

Der am häufigsten diagnostizierte histologische Subtyp der Ovarialkarzinome ist das seröse Karzinom, das meistens im FIGO-Stadium III diagnostiziert wird. Trotz des gleichen histologischen Subtyps und des gleichen FIGO-Stadiums zeigen die Patientinnen eine große Spannbreite an Überlebenszeiten. Die Gründe hierfür sind bislang noch nicht geklärt. Daher wurde im Rahmen der vorliegenden Dissertation der Fokus primär auf diese Subgruppe der Patientinnen gelegt, um mögliche Unterschiede auf Rezeptor-Ebene zu identifizieren. Auf den verwendeten TMAs entsprachen 70,7% der Patientinnen dieser Subgruppe (seröse Karzinome im FIGO-Stadium III).

Die Graduierung und histologische Typisierung war im Rahmen der Diagnostik vor 2014 durchgeführt worden; somit waren die Karzinome nach dem System nach Silverberg graduiert worden. Eine Nachgraduierung nach den aktuell gültigen Schemata erschien aufgrund der fraglichen Repräsentativität auf den TMAs nicht sinnvoll.

Bedingt durch das Alter mancher Fälle lagen nicht zu allen Patientinnen die vollständigen Informationen zu ihren klinischen Parametern und insbesondere ihrem Überleben vor. Die

allgemeine Erfassung des Follow-Ups von Krebspatienten war bis vor einigen Jahren nicht Standard und gestaltet sich auch heute noch durch die zunehmende Mobilität der Patientinnen schwierig. Diese fehlenden Informationen erschwerten die statistische Auswertung, da von 21,3% aller Patientinnen der Life Status fehlte und die Todesursache bei 49,8% der dokumentiert Verstorbenen nicht bekannt war. Da die Letalität bei Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom sehr hoch ist und nur wenige der Frauen tumorunabhängig verstorben sein dürften, wurde zur Berechnung der Überlebenszeitanalyse das Modell des relativen Überlebens gewählt. Das relative Überleben errechnet sich als Quotient aus dem absoluten Überleben der Krebspatientinnen und dem erwarteten Überleben der Allgemeinbevölkerung. Die allgemeine Sterblichkeit der Personen gleichen Alters und gleichen Geschlechts konnte herausgerechnet werden, sodass das relative Überleben das geeignete Korrelat für die krebsbedingte Mortalität war. Auf diese Weise konnte ein zu hoher Datenverlust durch Zensierungen bei Patientinnen mit unbekannter Todesursache vermieden werden. Gleichzeitig könnten überproportional viele oder wenige Frauen des Kollektivs tumorunabhängig verstorben sein, was die statistischen Ergebnisse verfälschen könnte.

### **5.3 Diskussion der Ergebnisse**

#### **5.3.1 Allgemeine Prognosefaktoren**

Es war das Ziel der vorliegenden Dissertation Unterschiede zwischen Ovarialkarzinompatientinnen aufzudecken, die für die divergierenden Überlebenszeiten verantwortlich sein könnten, um hierdurch erstens die individuelle Prognosestellung zu verbessern und zweitens personalisierte Therapiemöglichkeiten zu finden. Da 79,3% der Patientinnen des Kollektivs ein FIGO-Stadium III oder IV und 55,7% schlecht differenzierte G3-Tumoren besaßen, lag das Augenmerk vor allem auf dieser Gruppe. Laut RKI beträgt die relative 5-Jahres-Überlebensrate von Ovarialkarzinom-Patientinnen derzeit 41% [2]. Das untersuchte Patientenkollektiv zeigte mit nur 37,4% passend zur Vorselektion eine schlechtere 5-Jahres-Überlebensrate. Erwartungsgemäß wurden das FIGO-Stadium und das Grading als Prognosefaktoren bestätigt ( $p < 0,001$ ). Bemerkenswert ist, dass das Grading in der Untersuchung einen hochsignifikanten Einfluss auf das Überleben hatte, obwohl die Tumoren nach dem alten Grading-System nach Silverberg beurteilt wurden. Bei Anwendung des neuen MDACC-Systems und somit Unterteilung des Kollektivs in HGSCs und LGSCs könnte das Ergebnis noch deutlicher ausfallen, da sich die heterogenen G2-Tumoren in die jetzt gültigen low- und high-grade Gruppen aufteilen würden [55].

Die Kaplan-Meier-Kurve des FIGO-Stadiums III bestätigte, dass die Patientinnen trotz desselben Stadiums sehr unterschiedliche Überlebenszeiten hatten. Während in den ersten fünf Jahren nach Diagnosestellung ca. 70% der Patientinnen verstarben, flachte die Kurve in den nächsten zehn Jahren deutlich ab, sodass zehn Jahre nach Diagnosestellung noch knapp 20% und 15 Jahre nach Diagnosestellung noch 10% lebten. Dies verdeutlicht, dass es Faktoren neben dem FIGO-Stadium geben muss, die Einfluss auf die Prognose der Patientinnen haben.

Die Gruppe der muzinösen Karzinome war mit insgesamt 6 Tumoren nur durch eine sehr kleine Fallzahl repräsentiert. Ähnlich verhielt es sich mit der Gruppe der endometrioiden Karzinome (26 Tumoren). Alle anderen Karzinome, die weder serös, muzinös, noch endometrioid waren, wurden in der Gruppe „andere“ zusammengefasst. Somit handelte es sich hierbei um eine sehr heterogene Gruppe diverser histologischer Subtypen mit insgesamt 18 Tumoren. Eine statistische Auswertung war durch die geringen Fallzahlen der muzinösen, endometrioiden und anderen Karzinome nur eingeschränkt aussagekräftig.

Der histologische Subtyp hatte in dieser Studie einen signifikanten Einfluss auf das Überleben der Patientinnen. Patientinnen mit muzinösen Karzinomen zeigten eine schlechtere 1-Jahres-Überlebensrate als Patientinnen mit serösen und endometrioiden Karzinomen. Auch über den gesamten Zeitraum hinweg war der histologische Subtyp ein signifikanter Prognosefaktor. Die Überlebensraten zu einem späteren Zeitpunkt konnten nicht miteinander verglichen werden, da nach zwei Jahren bereits alle Patientinnen mit muzinösen Karzinomen verstorben waren.

Es zeigte sich des Weiteren ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen dem histologischen Subtyp und dem Grading der Tumoren ( $p=0,01$ ). Tabelle 13 zeigt, dass die endometrioiden Karzinome seltener schlecht differenziert waren als die serösen und muzinösen Karzinome. 62,5% der endometrioiden Karzinome waren gut oder mäßig gut differenziert (G1 oder G2). Bei den serösen Karzinomen waren dies 39,5%, bei den muzinösen Karzinomen sogar nur 33,3% und bei den anderen Karzinomen 11,8%. Endometrioide Karzinome haben allgemein die beste Prognose unter den Ovarialkarzinomen [188]. Die Ergebnisse dieser Untersuchung fügen sich in dieses Bild ein.

Patientinnen mit muzinösen Karzinomen haben im Vergleich zu Patientinnen mit serösen Karzinomen generell eine bessere Prognose und sind besser differenziert [189, 190]. Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Die Patientinnen mit muzinösen Karzinomen zeigten im untersuchten Kollektiv eine schlechtere 1-Jahres-Überlebensrate als Patientinnen mit Tumoren anderer Histologie. Dies kann unter anderem erklärt werden durch die hier festgestellte signifikant schlechtere Differenzierung muzinöser Karzinome im Vergleich zu endometrioiden Karzinomen. Wie oben bereits erwähnt sind

diese Ergebnisse aufgrund der niedrigen Fallzahl in der Gruppe der muzinösen Tumoren jedoch nur beschränkt aussagekräftig. Des Weiteren wurden in älteren Studien öfters Tumoren, die primär als muzinöse Ovarialkarzinome eingestuft worden waren, später als ovarielle Metastasen intestinaler Karzinome identifiziert [189]. Diese mögliche Fehlklassifikation konnte aufgrund der begrenzten Materialmenge und des lange zurückliegenden Ereignisses im Rahmen dieser Untersuchung nicht überprüft werden.

### 5.3.2 ER $\alpha$ und GPER

Die Angaben zur beobachteten ER $\alpha$ -Expression von Ovarialkarzinomen differieren in verschiedenen Studien, jedoch wird meist eine ER $\alpha$ -Positivität in über 60% der Fälle beobachtet [191, 192]. Passend hierzu waren 62,5% der Patientinnen dieser Arbeit, bei denen der Rezeptorstatus immunhistochemisch erhoben werden konnte, ER $\alpha$ -positiv. Die ER $\alpha$ -Expression korrelierte signifikant mit dem FIGO-Stadium, wobei ein höheres FIGO-Stadium mit einer höheren ER $\alpha$ -Expression einherging ( $p=0,001$ ). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der ER $\alpha$ -Expression und den Überlebenszeiten der Patientinnen konnte durch diese Arbeit erstaunlicherweise jedoch nicht gezeigt werden, obwohl das FIGO-Stadium mit dem relativen Überleben hochsignifikant korrelierte. Ursächlich hierfür können weitere Einflussfaktoren auf das Überleben sein, die im Rahmen dieser univariaten Analyse nicht erfasst wurden.

Da ein hohes FIGO-Stadium allgemein mit einer negativen Prognose verbunden ist, unterstützt diese Arbeit dennoch die Ergebnisse vieler in-vitro-Studien. ER $\alpha$  hatte in in-vitro-Studien proliferationsfördernde Eigenschaften in der Genese des Ovarialkarzinoms. Es aktivierte in einer Studie von O'Donnell et al. Regulatoren des Zellzyklus, der Apoptose, der Proliferation und der Differenzierung und war damit ein entscheidender Wachstumsstimulus [120]. Auch andere Arbeitsgemeinschaften kamen durch ihre Untersuchungen zu dem Schluss, dass ER $\alpha$ -negative Patientinnen eine bessere Überlebensprognose hatten als ER $\alpha$ -positive Patientinnen [193].

Kontrovers gestalten sich dazu jedoch die Ergebnisse diverser anderer Studien. Burges et al. konnten immunhistochemisch an 100 Ovarialkarzinomen nachweisen, dass sowohl ER $\beta$  als auch ER $\alpha$  in hochgradigen Ovarialkarzinomen weniger stark exprimiert waren als in Karzinomen einer niedrigeren Grading-Stufe. Des Weiteren stellten sie fest, dass ER $\alpha$ -negative Patientinnen eine schlechtere Prognose hatten als ER $\alpha$ -positive Patientinnen. Dieses Ergebnis, das im Widerspruch zu den Ergebnissen der oben genannten Studien und den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zu stehen scheint, wird dahingehend erklärt, dass

ER $\alpha$  vorrangig einen proliferationsfördernden Einfluss im Stadium der frühen Tumorgenese hat. Später jedoch wird die Expression von ER $\alpha$  durch die Aktivität anderer Proteine, wie zum Beispiel des metastasis-associated protein MTA1, herunterreguliert [121]. Weitere Studien erbrachten ähnliche Ergebnisse [122]. In einem Review von 2016 gab Voutsadakis einen ausführlichen Überblick über die aktuelle Datenlage zur Relevanz von Hormonrezeptoren in Ovarialkarzinomen. Das Augenmerk lag hierbei auch auf der Expression von ER $\alpha$  bei Patientinnen mit HGSCs. In der Mehrzahl der von ihm ausgewählten Studien zeigte sich bei ER $\alpha$ -positiven Patientinnen im Vergleich zu ER $\alpha$ -negativen Patientinnen eine bessere Prognose [194].

Ferner wurde experimentell nachgewiesen, dass PR durch ER $\alpha$  transaktiviert wird [143], was ein weiterer Erklärungsansatz für das bessere Überleben ER $\alpha$ -positiver Patientinnen sein könnte [121]. Auch in dieser Dissertation korrelierten ER $\alpha$  und PR signifikant miteinander ( $p < 0,001$ ). Mit weiteren Rezeptoren korrelierte ER $\alpha$  hingegen nicht signifikant.

In Anbetracht der Tatsache, dass ein hoher prozentualer Anteil der Ovarialkarzinome ER $\alpha$  exprimiert und das Ovar ein hormonell reguliertes Organ ist, könnte die Expression von ER $\alpha$  ein vielversprechendes Ziel einer AHT darstellen, wie sie beispielsweise mit Tamoxifen als SERM auch beim Mammakarzinom durchgeführt wird. Aktuell wird Tamoxifen nicht standardmäßig in der Therapie angewandt, da sich bislang in Studien eine niedrige Ansprechrate der Patientinnen auf Tamoxifen gezeigt hatte (ca. 18% [101]). Die Ergebnisse der klinischen Phase-III-Studie Ovaresist, die 2017 publiziert wurden, verdeutlichten, dass bei Patientinnen mit platinresistenten Rezidiven zwar das PFS unter alleiniger Tamoxifen-Therapie im Vergleich zu CTx signifikant kürzer, die gesundheitsbezogene Lebensqualität jedoch für Patientinnen unter Tamoxifen erhöht war, während das Gesamtüberleben statistisch nicht signifikant differierte [102]. Dies kann von großer Bedeutung sein, da das primäre Ziel der Therapie nicht-platingeeigneter Rezidive der Erhalt der Lebensqualität ist. Ebenso konnten Gershenson et al. zeigen, dass eine adjuvante endokrine Therapie unterschiedlicher Form (Tamoxifen, Letrozol, Anastrozol, Leuprorelin oder Medroxyprogesteronacetat) nach Primäroperation und adjuvanter platinhaltiger CTx bei Patientinnen mit LGSCs das PFS und Gesamtüberleben im Vergleich zur Beobachtungsgruppe signifikant verlängerte [105]. Somit könnte die endokrine Therapie einen zusätzlichen Benefit für Patientinnen mit LGSCs, die meist nur eingeschränkt platinsensibel sind, darstellen.

Vor dem Hintergrund, dass eine AHT ggf. eine effektive Therapieoption für Ovarialkarzinompatientinnen sein könnte, herrschte lange Zeit Unsicherheit, ob eine Therapie mit Östrogenen aufgrund der häufigen Expression von ER einen Risikofaktor für die

Entwicklung eines Ovarialkarzinoms darstellen und nach leitliniengerechter Primärtherapie eines bestehenden Ovarialkarzinoms eine Rezidiventwicklung auslösen oder beschleunigen könnte [7, 195]. Während über viele Jahre hinweg die HET als Risikofaktor galt und nur noch eingeschränkt empfohlen wurde, besteht nach aktueller Datenlage laut der North American Menopause Society maximal ein geringer oder sehr geringer Zusammenhang zwischen der HET und der Entwicklung eines Ovarialkarzinoms [50]. Ferner führte die adjuvante Hormontherapie nach erfolgter Primärtherapie in einer Studie von Eeles et al. zu einem signifikant besseren Gesamtüberleben im Vergleich zur Kontrollgruppe [113], sodass aktuell nach Leitlinie eine adjuvante Hormontherapie angeboten werden kann [67].

Die oben aufgeführten Studien verdeutlichen auf der einen Seite die kontroverse Datenlage zur Wirksamkeit einer AHT (geringe Ansprechrate einerseits [101] versus signifikante Vorteile [102, 105]), auf der anderen Seite machen die jüngsten Studienergebnisse jedoch deutlich, dass spezifische Patientinnengruppen von einer AHT profitieren könnten. Welche Patientinnen im Einzelnen für eine AHT geeignet sind und in welchem Umfang  $ER\alpha$  als Prognosefaktor zu werten ist, wird scheinbar von weiteren, modulierenden Faktoren beeinflusst.

Einer dieser modulierenden Faktoren könnte der verwandte Rezeptor  $ER\beta$  sein. In zahlreichen Studien wurde beobachtet, dass primär die  $ER\alpha/ER\beta$ -Ratio entscheidend für den Krankheitsverlauf sein könnte. In gesunden Ovarien überwiegt  $ER\beta$  gegenüber  $ER\alpha$ , die Ratio ist folglich kleiner als 1. In maligne entarteten Ovarialzellen hingegen verschiebt sich dieses Verhältnis zu Gunsten des  $ER\alpha$ , sodass die protektiven Effekte von  $ER\beta$  verloren gehen. Der Verlust des  $ER\beta$  wird heutzutage als ein wichtiger Schritt in der malignen Transformation des Ovarialkarzinoms angesehen und die höhere  $ER\beta$ -Expression ist mit einem längeren ereignisfreien Überleben und Gesamtüberleben assoziiert [196, 197].

Da in dieser Dissertation lediglich die Expression des  $ER\alpha$ -Subtyps bestimmt wurde, können keine Aussagen über die  $ER\beta$ -Expression und somit die  $ER\alpha/ER\beta$ -Ratio im untersuchten Kollektiv getätigt werden. Die Untersuchung der  $ER\alpha$ -Expression ist in der Standard-Diagnostik von gynäkologischen Tumoren wie Mamma-Karzinomen etabliert. Die  $ER\beta$ -Expression wird hingegen nicht standardmäßig bestimmt und war nicht Inhalt der vorliegenden Untersuchung.

Die Ergebnisse dieser Studie lassen im Kontext vieler anderer Studien trotz allem den Schluss zu, dass  $ER\alpha$  wegen seiner erhöhten Expression in fortgeschrittenen Ovarialkarzinomen ein geeignetes Ziel für SERMs sein könnte. Viele der klinischen Studien mit Tamoxifen wurden ungeachtet der ER-Expression der Patientinnen durchgeführt. Hatch et al. konnten jedoch feststellen, dass ER-positive Patientinnen besser auf die Therapie

ansprechen als negative Patientinnen [101]. Die Expressionsstärke von ER $\beta$  könnte ein modulierender Faktor für die Ansprechrate der Patientinnen auf SERMs sein. Hall/McDonnell entdeckten experimentell an Zelllinien, dass die Tamoxifen-Wirkung entscheidend von der Koexpression von ER $\alpha$  und ER $\beta$  abhing [198]. Es könnte in Zukunft von Bedeutung sein, ER $\alpha$ -positive Patientinnen auf ihre Expression von ER $\beta$  zu untersuchen und mittels weiterer klinischer Studien an großen Patientengruppen herauszufinden, welche Rezeptorexpressionskombinationen am günstigsten für eine Therapie mit SERMs sein könnten.

Ein weiterer modulierender Faktor könnte auch die Expressionsstärke des dritten wichtigen Östrogenrezeptors, GPER, sein. GPER war im untersuchten Kollektiv in 26,7% aller auswertbaren Fälle negativ und nur in 16,8% stark positiv. Analog zu ER $\alpha$  korrelierte die GPER-Expression zwar nicht mit dem Grading, dafür jedoch mit dem FIGO-Stadium. Anders als bei ER $\alpha$  korrelierte die Expression von GPER jedoch invers mit dem FIGO-Stadium, eine höhere Expression von GPER war dementsprechend mit einem niedrigeren FIGO-Stadium assoziiert. Gleichzeitig lieferte die Überlebensanalyse stratifiziert nach der GPER-Expression das zunächst überraschende Ergebnis, dass GPER-negative und stark GPER-positive Patientinnen eine bessere Überlebensrate hatten als die schwach und mäßig GPER-positiven Patientinnen ( $p=0,0454$ ). Es wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests die zentralen Tendenzen der Expressionsstärke der sechs anderen Rezeptoren gruppenspezifisch analysiert, um Unterschiede, die dieses Ergebnis erklären könnten, zu detektieren. Dies ergab, dass die Gruppe der schwach und mäßig GPER-positiven Patientinnen Gal-7 stärker exprimierte als die Gegengruppe der negativen und stark GPER-positiven Patientinnen ( $p=0,017$ ). Andere signifikante Unterschiede konnten nicht gefunden werden, allerdings zeigte sich eine leichte Tendenz dahingehend, dass die schwach und mäßig GPER-exprimierende Gruppe ER $\alpha$  stärker exprimierte als die Gegengruppe ( $p=0,099$ ). Wie weiter unten besprochen wird, zeigte sich Gal-7 in dieser Studie weder als signifikanter Prognosefaktor für das Überleben noch als korrelierendes Maß zu Grading und FIGO-Stadium. Somit diente Gal-7 im Rahmen dieser Dissertation nicht als geeignete Erklärung für die signifikant bessere Überlebensrate der GPER-negativen und stark GPER-positiven Patientinnen. In Anbetracht dessen, dass es jedoch eine leichte Tendenz zu einer vermehrten Expression von ER $\alpha$  in der Gruppe der schwach und mäßig GPER-positiven Patientinnen gab und ER $\alpha$  positiv mit dem FIGO-Stadium korrelierte (siehe oben), könnte hierin ein erster Erklärungsansatz für die ungewöhnlichen Überlebensraten gesucht werden. Des Weiteren gab es eine positive Korrelation zwischen GPER und FSHR ( $p=0,012$ ). FSHR-Positivität wird in der vorliegenden Studie mit einer negativen Überlebensprognose assoziiert. Dies könnte zumindest die bessere Überlebensrate der GPER-negativen



Patientinnen erklären, wohingegen die höhere Überlebensrate der stark GPER-positiven Patientinnen in großem Widerspruch dazu steht.

Die experimentellen und klinischen Studien fokussierten sich in den vergangenen Jahren vermehrt auf den erst später entdeckten GPER. Die ermittelten Ergebnisse verschiedener Arbeitsgemeinschaften waren jedoch sehr verschieden, sodass die genaue Rolle von GPER in der Tumorprogression des Ovars noch unklar ist. Zwar wurde experimentell nachgewiesen, dass GPER durch Transaktivierung von EGFR ERKs aktiviert und damit proliferationsfördernd sein sollte [132, 133], doch ist der prognostische Zusammenhang zwischen der GPER-Expression und dem Überleben der Patientinnen noch unklar. Manche Autoren wie Smith et al. statuierten, dass GPER ein negativer Prognosefaktor für das Überleben der Patientinnen sei [135-137], andere publizierten gegenteilige Ergebnisse [139]. Die Ergebnisse dieser Dissertation unterstützen beide Thesen. Denn sowohl die negativen als auch stark GPER-positiven Patientinnen wiesen eine bessere Überlebensrate auf als die intermediär liegenden Gruppen. Eventuell könnte dies durch die schwächere Gal-7- und ER $\alpha$ -Expression dieser Gruppe erklärt werden. Oder aber die Ergebnisse unterstützen die These von Kolkova et al., die feststellten, dass GPER alleine keinen Einfluss auf das Überleben der Patientinnen hat [138]. Somit bleibt unklar, ob GPER ein geeignetes Ziel für eine zielgerichtete Krebstherapie darstellen und ob dies von der Expression anderer Rezeptoren abhängig sein könnte.

### 5.3.3 PR

67,3% aller auswertbaren Gewebestanzten waren PR-negativ und nur 5,8% waren stark PR-positiv. Es gab keine signifikanten Korrelationen zwischen der PR-Expression und dem Grading oder FIGO-Stadium. Jedoch ergab die Überlebensanalyse mittels Kaplan-Meier-Kurven und Log-rank-Test, dass PR ein signifikanter Prognosefaktor für das Überleben der Patientinnen war ( $p=0,0103$ ). Patientinnen, die PR stark exprimierten, hatten eine signifikant bessere 5-Jahres-Überlebensrate als die Patientinnen, die PR nicht oder nur schwach exprimierten. Dieses Ergebnis fügt sich in eine Reihe von Studien ein, die zu dem Schluss kamen, dass PR ein positiver Prognosefaktor in der Progression des Ovarialkarzinoms ist. Zwar konnte keine signifikante Korrelation zwischen PR und dem FIGO-Stadium hergestellt werden, doch könnte das prozentual häufig hohe FIGO-Stadium des Kollektivs den großen Anteil PR-negativer Patientinnen erklären. Eine Korrelation zwischen der PR-Expression und dem histologischen Subtyp des Karzinoms gab es im untersuchten Kollektiv nicht ( $p=0,160$ ). In vielen Studien zeigten die prognostisch günstigen endometrioiden Karzinome eine höhere PR-Expression als andere histologische Subtypen (reviewed in [199]).

Sieh et al. fanden 2013 heraus, dass eine starke PR-Expression bei endometrioiden Ovarialkarzinomen und HGSCs im Vergleich zu keiner oder nur schwacher PR-Expression eine bessere Überlebensrate mit sich brachte. Je nach histologischem Subtyp differierte der prozentuale Anteil derer Ovarialkarzinomzellen, die PR-positiv waren, zwischen 8% (klarzellige Karzinome) und 67,4% (endometrioide Karzinome). HGSCs zeigten sich in ihrer Studie nur in 31,1% PR-positiv [122].

Ähnliche Angaben finden sich auch bei Lenhard et al., deren experimentelle Studie ergab, dass vor allem PR-B für eine positive Prognose relevant ist [145]. Die protektive Wirkung von Progesteron kann bislang nur teilweise erklärt werden: Eine Studie von Rodriguez et al. ergab, dass Progesteron Apoptosevorgänge im OSE induziert [146]. Progesteron reguliert außerdem die Expression von p53 hoch [200] und leitet den Zellzyklusarrest ein [201].

Die Ergebnisse dieser Dissertation fügen sich mit den Ergebnissen anderer Studien zu einem Bild zusammen. PR scheint einen Schutzfaktor für gesunde Frauen und einen positiven Prognosefaktor für bereits erkrankte Frauen darzustellen. Passend hierzu kann die Einnahme Progesteron-haltiger oraler Kontrazeptiva das Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken signifikant senken [40]. Es ist folglich nicht erstaunlich, dass bereits vor einigen Jahren das Augenmerk auf eine Progesteron-basierte, zielgerichtete Therapie gelegt wurde.

Verschiedene klinische Studien wurden durchgeführt, um den Einfluss von Progesteron auf das Überleben zu prüfen. Diese Studien wurden jedoch an Patientinnen durchgeführt, die chemotherapieresistent waren oder sich im Rezidiv befanden. Zheng et al. schlossen in ihr Review über die Wirksamkeit einer Progesteron-basierten Therapie bei rezidierten Tumoren 13 klinische Studien ein und fassten zusammen, dass 2,3% aller Patientinnen, die mit den Gestagenen Megestrolacetat oder Medroxyprogesteronacetat behandelt worden waren, eine komplette Remission, 4,9% eine partielle Remission und 10,9% eine stabile Erkrankung zeigten. Die beste Ansprechrate hatten Patientinnen mit einem ER-positiven/PR-positiven Rezeptorstatus [199].

Einer aktuelleren Studie von Wen et al. zufolge konnte die Gabe von Methoxyprogesteronacetat den Zellzyklus einer Ovarialkarzinomzelllinie nicht so effektiv arretieren wie Tamoxifen. VEGF wurde durch Methoxyprogesteronacetat nur schwach reduziert. Wen et al. schlugen eine kombinierte Therapie bestehend aus Tamoxifen und Methoxyprogesteronacetat vor [202].

Vor allem im Hinblick darauf, dass sowohl Östrogen als auch Tamoxifen die Expression von PR induzieren (siehe hierzu auch Korrelation von ER $\alpha$  mit PR in dieser Arbeit) und somit die Ansprechrate auf eine Progesteron-basierte Therapie erhöhen könnten, scheint diese Kombinationstherapie ein vielversprechender neuer Ansatz zu sein [199].

Zusammenfassend scheint es Faktoren zu geben, die das Ansprechen der PRs auf Progesteron und seine Derivate negativ beeinflussen und auf diese Weise den erhofften positiven Effekt der Gestagene auf die Progression der Erkrankung schmälern [202]. Hier wird es auch weiterhin von großer Bedeutung sein zu differenzieren, welche Patientinnen von einer Progesteron-basierten Therapie profitieren könnten und welche nicht.

### 5.3.4 FSHR und LHR

Im gesunden Ovar sind die Gonadotropine LH und FSH wichtige Regulatoren des weiblichen Reproduktionssystems mit Follikelreifung, Eisprung und Synthese von Östrogenen und Gestagenen. Ein negativer Einfluss von LH und FSH auf die Progression des Ovarialkarzinoms wäre somit nicht verwunderlich. Dennoch kamen verschiedene Studien nicht zu konkordanten Ergebnissen in Bezug auf die Einflüsse der Gonadotropine und ihrer Rezeptoren FSHR und LHR auf das Überleben. Die Analyse des Kollektivs dieser Dissertation ergab, dass 49,6% der Patientinnen mit auswertbaren Präparaten FSHR-negativ und 37,7% LHR-negativ waren. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Resultaten aus einer an 156 Präparaten durchgeführten Studie von Lenhard et al., so konnten in Bezug auf die Expression von LHR ähnliche Ergebnisse erzielt werden [157]. Lenhard et al. fanden eine LHR-Positivität in 64,3% der Fälle, ein Ergebnis, das im Einklang mit den hier errungenen Daten steht (65,9% aller Patientinnen und 62,3% aller auswertbaren Patientinnen waren LHR-positiv). Der Vergleich der Daten hinsichtlich des FSH-Rezeptorstatus offenbarte ebenfalls nur leichte Unterschiede. In der vorliegenden Arbeit waren 50,4% aller auswertbaren Präparate FSHR-positiv, in der Studie von Lenhard et al. waren es 63,1%.

FSHR korrelierte in der vorliegenden Arbeit weder mit dem FIGO-Stadium, dem Grading noch mit dem histologischen Subtyp. Doch war die Überlebensrate der stark FSHR-exprimierenden Patientinnen signifikant schlechter als die der FSHR-negativen Patientinnen. Die 5-Jahres-Überlebensrate lag bei der ersten Gruppe bei 13,2%, bei der zweiten Gruppe dagegen bei 46,0%. FSHR war somit ein signifikanter Prognosefaktor für das Überleben der Patientinnen.

Erstaunlicherweise korrelierte die FSHR-Expression zwar signifikant mit dem relativen Überleben, jedoch nicht mit FIGO-Stadium oder Grading. Ursächlich hierfür könnte mitunter sein, dass das im Rahmen dieser Arbeit verwendete, dreistufige Grading-System vor allen Dingen den serösen Karzinomen nicht gerecht werden kann. Des Weiteren war das Kollektiv vorselektiert und beinhaltete zum größten Teil Karzinome im FIGO-Stadium III, was ebenfalls ein Störfaktor in der Korrelationsanalyse sein könnte.

Die oben genannten Ergebnisse dieser Untersuchung sind konkordant zu den Ergebnissen von Lenhard et al., die FSHR ebenfalls als negativen Einflussfaktor auf das Überleben bezeichneten. Andere Arbeitsgemeinschaften kamen zu ähnlichen Resultaten [148, 151-154].

Kontrovers dazu stellten Zheng et al. fest, dass mit steigendem Tumorgading die FSHR-Expression tendenziell sinkt [150]. Vor dem Hintergrund der vermuteten negativen Auswirkungen einer starken FSHR-Expression auf das Überleben wäre sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in den Untersuchungen von Zheng et al. eher eine inverse Korrelation zwischen Tumorgading und der FSHR-Expression zu erwarten gewesen.

Lenhard et al. beobachteten eine positive Korrelation zwischen FSHR und LHR mit dem Koeffizienten 0,220 auf dem 0,01-Signifikanzniveau [157]. Ein ähnliches Ergebnis wurde in dieser Arbeit errechnet: FSHR und LHR korrelierten auf dem 0,01-Signifikanzniveau mit dem Koeffizienten 0,278. Die Produktion und Ausschüttung der Gonadotropine ist ein stark regulierter, mehrfach rückgekoppelter Prozess, in dem die Balance zwischen den beiden Hormonen eine große Rolle spielt. Dies könnte einer der Gründe für eine gleichsinnige Expression der Gonadotropin-Rezeptoren sein.

Lenhard et al. postulierten in ihrer Arbeit weiter, dass die Expression von LHR einen zu FSHR gegensinnigen Effekt auf das Überleben von Ovarialkarzinompatientinnen hat. Sie beobachteten, dass LHR-positive Patientinnen eine bessere Überlebensrate zeigten als Patientinnen mit negativem LH-Rezeptorstatus [157]. Die IHC dieser Dissertation hingegen ergab, dass LHR signifikant konkordant mit dem FIGO-Stadium korrelierte ( $p=0,041$ ) und LHR zwar über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben hatte, bei Betrachtung der 5-Jahres-Überlebensraten sich jedoch ein auf dem 0,05-Signifikanzniveau signifikant besseres Überleben der LHR-negativen und schwach LHR-positiven Patientinnen im Vergleich zu den stark LHR-positiven Patientinnen zeigte. Dieses Ergebnis könnte zwar durch die niedrige Patientenzahl in der stark LHR-exprimierenden Gruppe verfälscht sein, doch zeigt sich trotzdem ein Trend dahingehend, dass auch mäßig LHR-exprimierende Patientinnen eine bessere Überlebensrate im Vergleich zu den negativen und schwach positiven Patientinnen aufwiesen.

Zheng et al. konnten durch Zugabe von FSH zu Ovarialkarzinomzellen eine Proliferationssteigerung beobachten, die durch LH blockiert werden konnte [150]. Es gibt jedoch auch experimentelle Studien an Ovarialkarzinomzellen, die demonstrierten, dass sowohl FSH als auch LH die Invasivität steigerten und ein entscheidender Faktor in der Metastasierung sein könnten [155].

Klinische Studien, in denen GnRH-Analoga zur Suppression der endogenen FSH- und LH-Freisetzung eingesetzt wurden, ergaben ähnliche Resultate bezogen auf die niedrige Ansprechrate (partielle Remission in ca. 17%) wie der Einsatz von AIs und SERMs [104]. Diese GnRH-Analoga supprimieren sowohl die FSH- als auch die LH-Ausschüttung und könnten den potentiell vorhandenen protektiven Effekt von LH hemmen. In diesem Fall müsste über den Einsatz von FSHR-Antagonisten und LHR-Agonisten nachgedacht werden. Die Ergebnisse dieser Dissertation lassen jedoch eher vermuten, dass beide Gonadotropine einen negativen Einfluss auf das Überleben der Patientinnen haben und die Blockierung beider therapeutisch sinnvoll sein könnte. Auch hier scheinen jedoch weitere Faktoren vorhanden zu sein, die das Ansprechen auf die Therapeutika modulieren und einschränken.

Sehr interessant könnte die Funktion von FSHR für die T-Zell-basierte Immuntherapie sein, die in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus der Aufmerksamkeit geraten ist. Mithilfe sogenannter chimeric antigen receptors (Abk. CARs) ist es bereits gelungen große Erfolge in der Therapie von therapierefraktären akuten lymphatischen Leukämien zu erzielen. Das Prinzip besteht in der gentechnischen Veränderung von T-Lymphozyten des Leukämie-Erkrankten. Dem Patienten werden eigene T-Lymphozyten entnommen. In diese Zellen wird ein Gen eingebracht, das für ein CAR kodiert, und die gentechnisch veränderten T-Lymphozyten werden dem Patienten zurückgegeben. Das CAR ist ein Protein, das in der Lage ist nicht-MHC-präsentierte Moleküle auf Tumorzellen zu erkennen, die ansonsten dem Immunsystem entgehen würden. So ist das patienteneigene Immunsystem mit Hilfe der gentechnischen Veränderung in der Lage, die Tumorzellen selbstständig zu bekämpfen. Wichtig ist bei der Etablierung dieser Therapie, Antigenstrukturen zu finden, die ausschließlich auf den Tumorzellen zu finden sind und nicht physiologisch in anderen Geweben exprimiert werden, um so den immunologischen Angriff auf körpereigene Zellen zu verhindern [203].

Perales-Puchalt et al. konnten in ihrer 2016 publizierte Studie zeigen, dass der FSHR ein geeignetes Antigen für die T-Zell-basierte Immuntherapie sein könnte. Inspiriert von den CARs entwickelte die Gruppe sogenannte chimeric endocrine receptors (Abk. CERs). Es handelte sich demnach um ein Protein, das spezifisch den FSHR detektiert und so nach dem CAR-Prinzip die Immunantwort induziert. FSHR erfüllte in den Untersuchungen zunächst das Kriterium der Spezifität. FSHR war in 50% der immunhistochemisch untersuchten, serösen Ovarialkarzinomen exprimiert. Dieses Ergebnis war fast deckungsgleich zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Andere Gewebe als das Ovar zeigten bei Perales-Puchalt et al. keine FSHR-Expression. In einem Mausmodell konnte weiter gezeigt werden, dass FSHR-zielgerichtete T-Lymphozyten das Überleben der Mäuse signifikant verlängern konnten. Dies

geschah, vermutlich aufgrund der Spezifität von FSHR, ohne relevante toxische Nebenwirkungen [204].

Somit ist FSHR nicht nur aufgrund seiner endokrinen Funktion für die Therapie von Ovarialkarzinomen interessant. Es könnte sich auch als Zielstruktur für die sich nach und nach etablierende Immuntherapie eignen. Gefürchtet ist bei der T-Zell-basierten Therapie von akuten Leukämien vor allen Dingen der sogenannte Zytokinsturm. Hierbei handelt es sich um eine T-Zell-vermittelte Ausschüttung von übermäßig vielen Zytokinen, die eine systemische Entzündungsreaktion im Körper hervorrufen. Dabei kann es zu schwerwiegenden Komplikationen kommen, bis hin zum vasodilatatorischen Schock [203]. Auch Perales-Puchalt et al. stellten im Mausmodell einen Anstieg des Zytokins Interleukin-6 fest, was ein Hinweis auf einen beginnenden Zytokinsturm sein kann [204]. Somit handelt es sich zwar um eine vielversprechende Studie, doch muss die Aufmerksamkeit weiterhin auf die Eliminierung möglicher Risiken gerichtet werden, um die T-Zell-basierte Immuntherapie in der Therapie des Ovarialkarzinoms etablieren zu können.

### 5.3.5 Her2/neu

Die Untersuchung des Kollektivs auf eine Expression von Her2/neu erwies sich in 99,0% der auswertbaren Fälle als negativ. Nur drei der insgesamt 305 Patientinnen hatten einen positiven Her2/neu-Rezeptorstatus. Die Expression von Her2/neu korrelierte auch nicht mit klinischen Parametern wie Grading, FIGO-Stadium und Überleben. Es gab zwar eine Tendenz zu einer Korrelation zwischen der Her2/neu-Expression und dem histologischen Subtyp, nämlich dahingehend, dass endometrioiden Karzinome häufiger Her2/neu-positiv waren als die anderen Subtypen ( $p=0,078$ ). Doch aufgrund der extrem geringen Fallzahlen in den Gruppen der Her2/neu-positiven Karzinome sowie der endometrioiden Karzinome ist dieses Ergebnis nur sehr beschränkt aussagekräftig. Ebenso wenig gab es eine signifikante Korrelation mit der Expression anderer untersuchter Rezeptoren. Bei Betrachtung der drei Einzelfälle, die Her2/neu-positiv waren, zeigte sich, dass die beiden Patientinnen, die stark Her2/neu-positiv waren, kürzer lebten als der Durchschnitt des Gesamtkollektivs. Die Patientin mit einem mäßig stark Her2/neu-exprimierenden Tumor hingegen lebte mindestens 72 Monate und somit länger als der Durchschnitt des untersuchten Patientenkollektivs. Allerdings hatte diese Patientin einen endometrioiden Tumor im FIGO-Stadium I, welcher generell mit einer im Vergleich relativ guten Prognose verbunden ist. Da dies jedoch nur Einzelfälle sind, ist die Aussagekraft dieser Beobachtung sehr beschränkt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung unterstützen die These von Mayr et al., die mittels einer immunhistochemischen und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-Analyse feststellten, dass

Her2/neu in der Prognose von Ovarialkarzinompatientinnen offenbar keine Rolle spielt [161]. Engelstaedter et al. bestätigten in ihrer Studie diese Ergebnisse [163].

Lanitis et al. zeigten, dass alle Ovarialkarzinomzellen Her2/neu-positiv seien und die IHC die Expression des Rezeptors unterschätzte [165]. Mayr et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass es eine hohe Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der IHC und der FISH-Analyse in der Detektion der Her2/neu-Expression gibt [161]. Eine Unterschätzung der Her2/neu-Expression im Rahmen dieser Dissertation ist folglich als unwahrscheinlich anzusehen.

In unserem Kollektiv gab es lediglich einen Tumor, der die Expressionsstärke 2+ aufwies. Aufgrund der fehlenden statistischen Relevanz wurde auf die Durchführung einer FISH-Analyse zur genauen molekularen Klassifikation verzichtet.

Eine klinische Phase-II-Studie der GOG untersuchte die Wirksamkeit von Trastuzumab bei Frauen mit rezidiertem oder therapierefraktärem Ovarialkarzinom. 41 Patientinnen wurden mit Trastuzumab behandelt, 7,3% sprachen auf die Therapie an [108]. Über die ebenfalls nicht eindeutige Datenlage zur Wirksamkeit von Pertuzumab wurde bereits im Kapitel 1.2.8.3 berichtet.

Da bis zum aktuellen Zeitpunkt keine klinische Studie eine signifikante Verlängerung des PFS oder des Gesamtüberlebens durch eine adjuvante Therapie mit Her2/neu-Antikörpern zeigen konnte, hat sich ihr Einsatz in der Therapie des Ovarialkarzinoms bislang nicht als Standard etablieren können. Zufriedenstellende Erklärungsansätze für das nur mäßige Ansprechen auf Her2/neu-Antikörper gibt es bislang nicht.

### 5.3.6 Gal-7

Der zur Gruppe der tierischen Lektine gehörende Rezeptor Gal-7 nimmt Einfluss auf verschiedene zelluläre Prozesse im menschlichen Körper. Seine Rolle in der Genese des Ovarialkarzinoms ist bislang jedoch ungeklärt.

Insgesamt gibt es bis heute wenige Studien, die anhand größerer Patientenkollektive die Funktion von Gal-7 in Ovarialkarzinomen untersuchen. Die Datenbankrecherche lieferte nur zwei größere Studien aus den Jahren 2013 und 2014.

Kim et al. untersuchten die Gal-7-Expression in 63 Ovarialkarzinomen. Sie stellten fest, dass eine erhöhte Expression von Gal-7 mit einem höheren Alter und einer schlechteren Prognose einherging. Das Herunterregulieren von Gal-7 in Ovarialkarzinomzelllinien führte zu einer Inhibition der Proliferation [205].

Labrie et al. führten 2014 eine ähnliche Studie an 112 Patientinnen durch, in der sie beobachteten, dass Gal-7 in allen histologischen Subtypen des Ovarialkarzinoms hochreguliert war, wohingegen gesunde, nicht entartete Ovarien kein Gal-7 exprimierten. Insbesondere wurde Gal-7 im Vergleich zu benignen Tumoren signifikant stärker in Borderlinetumoren und hochgradigen sowie metastasierten Tumoren exprimiert. Die Expression von Gal-7 korrelierte nicht mit dem Alter oder dem Krankheitsstadium der Patientinnen. Analog den Untersuchungen an Mammakarzinomzellen konnten Labrie et al. zeigen, dass die Gal-7-Expression durch mutiertes p53 induziert werden kann und die Invasivität des Tumors durch Gal-7 gesteigert wird. Extrazellulär lokalisiertes Gal-7 induzierte die Apoptose von Monozyten und Lymphozyten und wirkte dadurch proliferationsfördernd. Außerdem war die Überexpression von Gal-7-mRNA mit einem schlechteren Überleben der Patientinnen mit serösen Karzinomen verbunden [179].

Die Angaben passen zumindest teilweise zu den Ergebnissen dieser Dissertation. Im untersuchten Patientenkollektiv waren 86,5% Gal-7-positiv (91,7% der Auswertbaren), nur 8,3% wurden als Gal-7-negativ eingestuft. Es gab jedoch keine Korrelation mit dem histologischen Subtyp, dem Grading und dem FIGO-Stadium sowie dem relativen Überleben der Patientinnen. Da in dieser Dissertation ein dreistufiges Grading-System und nicht das aktuell empfohlene zweistufige MDACC-System nach Malpica angewandt wurde, konnte nicht zwischen LGSCs und HGSCs unterschieden werden, sodass Gal-7 nicht mit diesen beiden Gruppen korreliert werden konnte. Dass Gal-7 in HGSCs stärker exprimiert wird als in LGSCs, erscheint vor dem Hintergrund, dass HGSCs zu den sogenannten Typ-II-Tumoren mit häufigen p53-Mutationen gehören und Gal-7 wie oben vermerkt durch mutiertes p53 induziert wird, logisch. Hingegen steht dies im Widerspruch zu der experimentell erlangten Vermutung, dass Gal-7 das Produkt des p53-induced gene 1 ist und pro-apoptotische Wirkungen hat [173, 174].

Gal-7 konnte in verschiedenen Zellkompartimenten gefunden werden: im Nukleus, im Zytoplasma und ebenso extrazellulär. Die unterschiedliche Lokalisation des Proteins könnte ein Grund für die Diversität seiner Funktionen sein [177].

Relevant ist, dass in dieser Arbeit nicht zwischen verschiedenen Lokalisationen von Gal-7 unterschieden wurde. Dies wurde auch in den anderen Studien nicht getan, könnte allerdings eine sinnvolle Maßnahme sein, um mehr über die verschiedenen, eventuell Zellkompartiment-abhängigen Auswirkungen der Gal-7-Expression zu erfahren.

Dennoch konnte diese Arbeit nicht die Ergebnisse von Kim et al. und Labrie et al. hinsichtlich einer schlechteren Überlebensprognose bei Überexpression von Gal-7 bestätigen. Tatsächlich konnte keine signifikante Korrelation zwischen Gal-7 und dem relativen Überleben gefunden werden. Der prozentuale Anteil Gal-7-positiver Patientinnen war in



dieser Dissertation im Vergleich zu den Angaben von Labrie et al. (seröse Karzinome in 43,73% positiv) recht hoch. Hier wurde kritisch überdacht, ob die Antikörperbindung gegen Gal-7 eine ausreichende Spezifität besaß. Da jedoch auch Negativkontrollen im Rahmen der IHC durchgeführt worden sind und hier eine ausreichende Spezifität nachgewiesen werden konnte, erscheint dies keine Erklärung für die überproportional hohe Fraktion Gal-7-positiver Gewebestanzungen zu sein. Vorausgesetzt, dass Gal-7 proliferationsfördernde Eigenschaften besitzt, könnte ein Erklärungsansatz sein, dass das Kollektiv aus besonders schlecht differenzierten Karzinomen mit hohem FIGO-Stadium bestand und folglich eine starke Gal-7-Expression aufzeigen musste. Gleichzeitig gab es aber keine direkte Korrelation zwischen Gal-7 und dem Grading oder FIGO-Stadium.

Die Stärke dieser Dissertation war auch hier, dass die Untersuchung der Expressionsstärke von Gal-7 im Vergleich zu den beiden bestehenden Arbeiten mit 305 Patientinnen an einem relativ großen Kollektiv durchgeführt wurde. Die Ergebnisse fügen sich nicht in ein Bild mit den Ergebnissen von Labrie et al. und Kim et al. ein. Es bleibt also fraglich, ob Gal-7 tatsächlich eine entscheidende Rolle in der Genese und Progression des Ovarialkarzinoms spielt und ob die Entwicklung von Medikamenten, die Gal-7 inhibieren, sinnvoll sein könnte.

Es gab bereits einige Versuche, spezifische Medikamente gegen Galektine zu entwickeln und in die Therapie von malignen Neoplasien zu implementieren. Doch stehen die Forschungsgruppen vor einigen Herausforderungen: 1) Die genauen Funktionen der Galektine, so auch Gal-7, sind für viele Neoplasien noch nicht geklärt und scheinen sich von Organsystem zu Organsystem zu unterscheiden. 2) Bislang waren die Medikamente gegen die Kohlenhydrat-Erkennungs-Domäne der Galektine gerichtet ohne die Protein-Protein-Interaktionen im Nukleus zu beeinträchtigen. 3) Die Kohlenhydrat-Erkennungs-Domänen zeigen innerhalb der Gruppe der Galektine eine große Homologie, sodass es eine schwierige Aufgabe ist, Medikamente zu entwickeln, die spezifisch gegen einen Subtyp der Galektine gerichtet sind (Reviewed von St-Pierre et al. in [206]).

Es wird in Zukunft weiterhin essentiell sein, die genaue Funktion von Gal-7 in Ovarialkarzinomen zu erforschen und gegebenenfalls die aufgeführten Hürden der Implementierung einer Gal-7-basierten Therapie zu überwinden.

### 5.3.7 Rezeptorkombinationen

Die kontroverse Datenlage zur Bedeutung der Expression verschiedener Rezeptoren, unterstützt durch die Ergebnisse dieser Dissertation, zeigt, dass Ovarialkarzinome auf der einen Seite eine sehr heterogene Gruppe von malignen Neoplasien darstellen, die nicht einheitlich behandelt werden sollten. Auf der anderen Seite verdeutlichen die Ergebnisse, dass die meisten Rezeptoren alleine nicht geeignet sind, um Überlebensprognosen zu stellen. Es gibt ein wachsendes Interesse an der Kombination verschiedener Rezeptoren, die sich gegenseitig beeinflussen und so die vielfältigen Ergebnisse unterschiedlicher Studien erklären könnten.

Die Arbeitsgemeinschaft um Heublein et al. beschäftigte sich mit der Frage, welcher Zusammenhang zwischen der Expression von GPER und der Expression der Gonadotropin-Rezeptoren LHR und FSHR besteht [207]. Pavlik et al. hatten gezeigt, dass LH die Expression von GPER in Granulosazellen steigert [208] und Heublein et al. konnten dem hinzufügen, dass GPER in Ovarialkarzinomzellen durch die Gonadotropine induziert wird [207]. Ein Zusammenhang zwischen den Gonadotropinen, den Steroidhormonen  $ER\alpha$  und PR sowie GPER scheint möglich zu sein. Zwar gab es, anders als bei Heublein et al., in dieser Dissertation keine signifikante Korrelation zwischen LHR und GPER. Dafür korrelierte FSHR signifikant mit GPER ( $p=0,012$ ), was die Ergebnisse von Heublein et al. unterstützt. Analog zu ihrer Arbeit konnte auch in dieser Dissertation keine Korrelation zwischen GPER und  $ER\alpha$  und kein signifikanter Einfluss von GPER auf das Überleben der Patientinnen gefunden werden. Jedoch korrelierte die Expression von FSHR signifikant mit der Expression von LHR ( $p<0,001$ ).

Heublein et al. fassten zusammen, dass GPER in ihren Untersuchungen ein positiver Prognosefaktor in Gonadotropin-negativen Fällen war und die Aktivierung von GPER in dieser Subgruppe von therapeutischem Nutzen sein könnte. Die Ergebnisse dieser Dissertation unterstützen die Beobachtungen von Heublein et al. kaum. Die FSHR-positiven Patientinnen hatten zunächst sowohl mit positiver als auch negativer GPER-Expression ein schlechteres Überleben als die FSHR-negativen Patientinnen mit positiver und negativer GPER-Expression. Dies ist jedoch am wahrscheinlichsten auf das signifikant bessere Überleben der Patientinnen, die unabhängig von GPER einen negativen FSHR-Status hatten, zurückzuführen. Die weitere Stratifizierung nach GPER konnte jedoch keine signifikanten Unterschiede im Überleben der Patientinnen mit FSHR-/GPER- und FSHR-/GPER+ zeigen. Gleiches gilt auch für die Unterscheidung in FSHR+/GPER+ und FSHR+/GPER-. Es gab hingegen eher eine Tendenz dazu, dass GPER-Positivität nach Stratifizierung in FSHR-positive und FSHR-negative Gruppen ein negativer Prädiktor für das Überleben der Patientinnen ist. Diese Beobachtung war jedoch nicht signifikant. Die

Konstellation FSHR+/GPER+ bedeutete allerdings im Vergleich zur Konstellation FSHR-/GPER- ein 1,8fach so hohes Sterberisiko zu haben.

GPER-negative Patientinnen zeigten im Zeitraum zwischen ca. drei und neun Jahren nach Diagnosestellung ein besseres Überleben als GPER-positiven Patientinnen. Da der Einfluss der Rezeptorkombination FSHR/GPER auf das relative Überleben mittels der 5-Jahres-Überlebensraten überprüft wurde, fällt dies exakt in die Zeit des scheinbar positiven Einflusses einer negativen GPER-Expression. Vor und nach dem genannten Zeitraum waren die nach der GPER-Expression stratifizierten Kaplan-Meier-Kurven in etwa deckungsgleich. Warum eine GPER-Negativität in diesem Zeitraum ein positiver Faktor war, bleibt ungeklärt.

Analog zur FSHR/GPER-Rezeptorkombination wurde auch LHR in Kombination mit GPER bezüglich seines Einflusses auf das Überleben der Ovarialkarzinompatientinnen überprüft.

Es fand sich keine signifikante Korrelation zwischen der Rezeptorkombination LHR/GPER und dem relativen Überleben. Rein visuell betrachtet schienen doppelt Rezeptor-negative Patientinnen die beste Überlebensprognose zu haben. Mittels Cox-Regressionsanalyse konnte diese Vermutung bestätigt werden, signifikant war dies jedoch nur im Vergleich zu LHR-/GPER+ ( $p=0,044$ ). Auch dieses Ergebnis ist als Widerspruch zu den Ergebnissen von Heublein et al. zu werten. GPER-Positivität war ein negativer Prädiktor für Ovarialkarzinompatientinnen mit negativem LHR-Status. Sicher von Bedeutung für diese kontroversen Ergebnisse war die Tatsache, dass Heublein et al. sich dazu entschieden hatten, die GPER-Expression nicht in positiv und negativ einzuteilen, sondern sich stattdessen am Median der Expression orientierten und alle Expressionsstärken, die kleiner als der Median waren, als niedrig, und alle Expressionsstärken, die größer als der Median waren, als hoch zu bezeichnen. Im Zuge dieser Dissertation wurde die Einteilung in positiv und negativ gewählt. Einen Standard gibt es hierzu bislang nicht.

Inspiziert durch die Arbeit von Heublein et al. wurden in dieser Arbeit weitere Rezeptorkombinationen auf ihren Einfluss auf das Überleben überprüft. Von besonderem Interesse war hierbei die Kombination der Östrogenrezeptoren  $ER\alpha$  und GPER, da sie eventuell ein relevanter Faktor für die mäßigen Erfolge der antiöstrogenen Therapie sein könnte. Es zeigte sich jedoch, dass es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen relativem Überleben und der  $ER\alpha$ /GPER-Konstellation gab.

Die Kombination aus PR und GPER war ein signifikanter Einflussfaktor auf das Überleben. GPER-Positivität war ein negativer Prädiktor bei PR-negativen Patientinnen. Die Patientinnen mit der Konstellation PR-/GPER+ hatten im Vergleich zu Patientinnen mit der Konstellation PR-/GPER- ein 1,7faches Risiko zu versterben.

Zusammenfassend lässt sich die These aufstellen, dass GPER-Antagonisten bei PR-negativen und LHR-negativen Patientinnen die Prognose verbessern könnten. Dies widerspricht Heublein et al., die eine Aktivierung von GPER bei LHR- und FSHR-negativen Patientinnen zur Prognoseverbesserung vorschlugen. Weitere Studien werden von Nöten sein, um Klarheit in diese kontroverse Datenlage zu bringen.

Des Weiteren wurde auch der Einfluss der Gal-7-Expression stratifiziert nach ER $\alpha$ /PR/FSHR- und LHR-Positivität und –Negativität untersucht. Da Gal-7 alleine keinen Einfluss auf das Überleben hatte, interessierten seine prognostischen Auswirkungen in Kombination mit anderen Rezeptoren.

Diese Analyse lieferte überraschende Ergebnisse. Weder ER $\alpha$  noch Gal-7 alleine hatten einen Einfluss auf das relative Überleben der Patientinnen. Es war jedoch prognostisch ungünstig, wenn beide Rezeptoren negativ waren. Das heißt, dass doppelt negative Patientinnen im Vergleich zu den anderen drei Gruppen das höchste Risiko hatten zu versterben. Gleichzeitig war es tendenziell ungünstig, wenn bei ER $\alpha$ -Positivität auch Gal-7 exprimiert wurde. Dieses Ergebnis war jedoch nicht signifikant. Konträr dazu verhielt sich die Kombination aus PR und Gal-7. Hier hatten doppelt positive und doppelt negative Patientinnen eine signifikant bessere Prognose als die diskordanten Rezeptorkonstellationen. Patientinnen mit der Konstellation FSHR+/Gal-7+ hatten eine schlechtere Prognose als die Patientinnen mit dem Status FSHR-/Gal-7-. Signifikant war dieses Ergebnis beim Vergleich der 5-Jahres-Überlebensrate zwischen der Konstellation FSHR-/Gal-7- und der Konstellation FSHR+/Gal-7+. Die Ergebnisse der FSHR/Gal-7-Rezeptorkombination lassen sich vermutlich am ehesten durch den starken negativen Einfluss von FSHR auf das Überleben erklären, denn FSHR-negative Patientinnen hatten unabhängig von ihrer Gal-7-Expression eine bessere Prognose als die FSHR-positiven Patientinnen. Die Untersuchung der Kombination aus LHR und Gal-7 erbrachte keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben.

Es könnte in Zukunft sinnvoll sein noch größere Patientenkollektive zu testen, die einen einheitlichen histologischen Subtyp aufweisen.

### 5.3.8 Veränderung der Rezeptorexpression zwischen Primärtumor und Rezidiv

In den TMAs enthalten waren zwei Tumoren derselben Patientin, einmal zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und dann zum Zeitpunkt des Rezidivs nach erfolgter CTx. Vier der sieben Rezeptoren (ER $\alpha$ , Gal-7, FSHR, LHR) waren im Rezidiv deutlich herunterreguliert, während der Status von PR und Her2/neu gleich blieb.

Fast alle Studien, die den Nutzen zielgerichteter, endokriner Therapien erforschten, fanden an chemotherapierefraktären und/oder rezidierten Ovarialkarzinomen statt, da sie in der leitliniengerechten Primärtherapie des Ovarialkarzinoms bisher keine Anwendung finden. Die Studien zur Ansprechrate von AIs, SERMs, Trastuzumab und GnRH-Analoga basieren auf dem Rezeptorstatus der Patientinnen vor der CTx, der sich aber im Verlauf der CTx verändert haben könnte.

Nach Studienlage [209, 210] ist bekannt, dass sich die Expression diverser Rezeptoren durch eine CTx verändern kann und eine Therapie auf Basis der immunhistochemischen Untersuchungen am Primärtumor nicht zielführend sein muss.

Daher sollte bei Wirksamkeitsprüfungen zielgerichteter, individueller Therapieformen nach Möglichkeiten gesucht werden, den aktuellen Rezeptorstatus vor einer potentiellen endokrinen oder Rezeptor-basierten Therapie zu überprüfen.

### 6 Zusammenfassung

Das Ovarialkarzinom stellte mit 7.250 Neuerkrankungen im Jahr 2014 die achthäufigste Krebsneuerkrankung bei Frauen in Deutschland dar. Es ist somit der dritthäufigste maligne gynäkologische Tumor, der mit einer hohen Letalität verbunden ist. Dies ist auf den Mangel an geeigneten Screening-Verfahren und Frühsymptomen zurückzuführen, der dazu führt, dass die Erkrankung meistens erst in einem späten Stadium diagnostiziert wird. Hinzu kommt, dass sich die Therapieoptionen in den letzten Jahrzehnten nur geringgradig verbessert haben und alle Patientinnen weitgehend gleich operativ und chemotherapeutisch behandelt werden. Einen Meilenstein in der Entwicklung einer wirkungsvollen, zielgerichteten Therapie, wie sie zum Beispiel in Form einer endokrinen Therapie beim Mammakarzinom angewandt wird, stellt die Zulassung der PARP-Inhibitoren, beginnend mit Olaparib im Dezember 2014 für Patientinnen mit einem rezidierten, platin-sensitiven, high-grade serösen, BRCA-mutierten Ovarialkarzinom, dar. Mit Niraparib wurde 2017 der erste orale PARP-Inhibitor, der unabhängig vom BRCA-Status der Patientin in der Erhaltungstherapie von Rezidiven platinsensitiver, gering differenzierter, seröser Ovarialkarzinome eingesetzt werden kann, zugelassen. Hierdurch wurde ein PARP-Inhibitor einer größeren Patientengruppe zugänglich gemacht. Weitere Vertreter der Gruppe sind Gegenstand aktueller klinischer Studien oder befinden sich im Zulassungsprozess, wie beispielsweise Rucaparib. Für viele Patientinnen gibt es jedoch weiterhin noch keine Optionen einer zielgerichteten, personalisierten Therapie. Daher war es das Ziel der vorliegenden Dissertation eine Gruppe von Rezeptoren auf ihre Expression hin zu untersuchen, die gewonnenen Daten mit klinischen Parametern zu korrelieren und Unterschiede, die sowohl für eine Prognoseabschätzung, als auch als mögliche Therapieoptionen dienen könnten, herauszuarbeiten. Bei den ausgewählten Rezeptoren handelte es sich um den Östrogenrezeptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ), den Progesteronrezeptor (PR), den G protein-coupled estrogen receptor (GPER), den Follikelstimulierenden-Hormon-Rezeptor (FSHR), den Luteinisierenden-Hormon-Rezeptor (LHR), den Human epidermal growth factor receptor 2 (Her2/neu) und Galektin 7 (Gal-7).

Hierfür wurden immunhistochemische Färbungen an Tissue Microarrays, die Gewebestanzten von 305 Ovarialkarzinomen enthielten, durchgeführt. Die Rezeptorexpression wurde mit Hilfe des Immunreaktiven Scores nach Remmele und Stegner sowie des HercepTest Scores quantifiziert und im Anschluss daran mit den klinischen Parametern FIGO-Stadium, Grading und dem Überleben der Patientinnen sowie dem histologischen Subtyp des Tumors korreliert. Außerdem wurde eine Korrelationsanalyse der Rezeptoren untereinander durchgeführt.

Die statistische Analyse ergab, dass es einen in der Literatur bereits bekannten hochsignifikanten Zusammenhang ( $p < 0,001$ ) zwischen dem Grading, FIGO-Stadium und histologischen Subtyp auf der einen Seite und dem Überleben der Patientinnen auf der anderen Seite gab. Der prozentuale Anteil der Tumoren, die ER $\alpha$ , PR, Her2/neu, GPER, Gal-7, FSHR und LHR exprimierten, lag, bezogen auf alle auswertbaren Gewebestanzten, respektive bei 62,5%, 32,7%, 1,0%, 73,3%, 91,7%, 50,4% und 62,3%. Es gab positive Korrelationen zwischen ER $\alpha$  und PR ( $p < 0,001$ ), GPER und Gal-7 ( $p < 0,001$ ), FSHR und LHR ( $p < 0,001$ ), GPER und FSHR ( $p = 0,012$ ) sowie Gal-7 und FSHR ( $p = 0,021$ ). Die Expressionsstärke von ER $\alpha$ , Gal-7 und Her2/neu hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben. PR war ein positiver, FSHR und LHR hingegen waren negative Prognosefaktoren für die Patientinnen. Die Kaplan-Meier-Kurven der GPER-Expression ließen vermuten, dass GPER-negative und stark GPER-positive Patientinnen ein besseres Überleben hatten als schwach und mäßig GPER-positive Patientinnen.

Die Untersuchung des Einflusses verschiedener Rezeptorkombinationen auf das Überleben zeigte, dass GPER-Positivität sowohl in der Gruppe der FSHR-positiven als auch der FSHR-negativen Patientinnen tendenziell ein negativer Prädiktor war. Gleichzeitig war GPER-Positivität ein negativer Prognosefaktor für LHR- und PR-negative Patientinnen. Die Kombination aus GPER und ER $\alpha$  hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben.

Zusätzlich konnte bei einer Patientin eine Veränderung der Rezeptorexpression im Rezidiv nach erfolgter Chemotherapie im Vergleich zu ihrem Primärtumor nachgewiesen werden. Vier der sieben Rezeptoren (ER $\alpha$ , Gal-7, FSHR, LHR) waren im Rezidiv deutlich herunterreguliert, während der Status von PR und Her2/neu gleich blieb; die Expression von GPER konnte im Rezidiv nicht beurteilt werden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung spiegeln die Schwierigkeiten in der Etablierung einer zielgerichteten Therapie für Ovarialkarzinompatientinnen wider, da der Einfluss der hier untersuchten Rezeptoren auf die Prognose der Patientinnen offenbar von vielen modulierenden Faktoren abhängig zu sein scheint. Des Weiteren kann sich die Rezeptorexpression durch eine Chemotherapie verändern, wodurch die schlechten Ansprechraten auf zielgerichtete Therapien bei progredienten oder rezidierten Patientinnen nach einer Chemotherapie in klinischen Studien teilweise erklärt werden könnten.

In den nächsten Jahren wäre es wünschenswert, wenn der Fokus auf der Identifizierung von Patientinnen läge, die von einer Rezeptor-basierten Therapie profitieren könnten. Dabei sollte in weiteren Studien mit möglichst großen Kollektiven untersucht werden, welche Faktoren das unterschiedliche Ansprechen der Patientinnen auf zielgerichtete Therapien wie zum Beispiel die Progesteron-basierte Therapie mit Methoxyprogesteronacetat oder

Tamoxifen bewirken. Ebenso ist von Interesse, welchen Einfluss die Expression von ER $\beta$ , dem zweiten klassischen nukleären Östrogenrezeptor, auf das Überleben der Patientinnen hat. Die Expression von ER $\beta$  wird im Gegensatz zu der von ER $\alpha$  nicht standardmäßig in der Diagnostik von gynäkologischen Tumoren bestimmt, obwohl der Verlust des ER $\beta$  als ein wichtiger Schritt in der malignen Transformation zum Ovarialkarzinom angesehen wird. Folglich könnte ER $\beta$  im Rahmen von zielgerichteten Therapien von großem Nutzen sein, diesbezügliche Untersuchungen konzentrierten sich bisher jedoch auf ER $\alpha$ .

Problematisch war und ist bislang, dass fast alle Untersuchungen zielgerichteter Therapien an rezidierten, chemotherapierefraktären Tumoren stattfanden und aufgrund der schlechten Datenlage auf diese Therapien erst in späten Erkrankungsphasen zurückgegriffen wird. Wie die vorliegende Arbeit exemplarisch demonstrierte, fand jedoch im Verlauf der Chemotherapie teils eine Herunterregulierung der Rezeptorexpression statt. Studien, die die Wirksamkeit neuer, zielgerichteter Therapien begleitend oder alternativ zur standardisierten Therapie bereits an Primärkarzinomen untersuchen, erscheinen daher erstrebenswert.



## 7 Literaturverzeichnis

1. Böcker, D., Heitz, Höfler, Kreipe, Moch, *Pathologie*. 5. ed. 2012, München: ELSEVIER Urban & Fischer. 751-764.
2. Robert-Koch-Institut. *Krebs in Deutschland für 2013/2014*. Gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland E.V. 2017; 11:[Available from:  
[https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs\\_in\\_Deutschland/kid\\_2017/krebs\\_in\\_deutschland\\_2017.pdf?\\_blob=publicationFile](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2017/krebs_in_deutschland_2017.pdf?_blob=publicationFile).
3. Torre, L.A., et al., *Global cancer statistics, 2012*. CA Cancer J Clin, 2015.
4. Tumorzentrum München an den Medizinischen Fakultäten der Ludwig-Maximilians-Universität und der Technischen Universität, *Maligne Ovarialtumoren - Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. 10. ed. Manual. 2014, München: Zuckschwerdt.
5. Lowe, K.A., et al., *An international assessment of ovarian cancer incidence and mortality*. Gynecol Oncol, 2013. **130**(1): p. 107-14.
6. Villard-Mackintosh, L., M.P. Vessey, and L. Jones, *The effects of oral contraceptives and parity on ovarian cancer trends in women under 55 years of age*. Br J Obstet Gynaecol, 1989. **96**(7): p. 783-8.
7. Yang, H.P., et al., *Ovarian cancer incidence trends in relation to changing patterns of menopausal hormone therapy use in the United States*. J Clin Oncol, 2013. **31**(17): p. 2146-51.
8. Anderson, G.L., et al., *Effects of estrogen plus progestin on gynecologic cancers and associated diagnostic procedures: the Women's Health Initiative randomized trial*. Jama, 2003. **290**(13): p. 1739-48.
9. Rutten, M.J., et al., *Development and internal validation of a prognostic model for survival after debulking surgery for epithelial ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2014. **135**(1): p. 13-8.
10. Burges, A. and B. Schmalfeldt, *Ovarian cancer: diagnosis and treatment*. Dtsch Arztebl Int, 2011. **108**(38): p. 635-41.
11. Tew, W.P. and S.M. Lichtman, *Ovarian cancer in older women*. Semin Oncol, 2008. **35**(6): p. 582-9.

12. Meinhold-Heerlein, I. and S. Hauptmann, *The heterogeneity of ovarian cancer*. Arch Gynecol Obstet, 2014. **289**(2): p. 237-9.
13. Auersperg, N., et al., *Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology*. Endocr Rev, 2001. **22**(2): p. 255-88.
14. Kurman, R.J., et al., *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. 4. ed. WHO Classification of Tumours. Vol. 6. 2014: WHO. 307.
15. Kommoss, F., B. Richter, and G.-P. Breitbach, *Borderline tumors of the ovary*. Der Gynäkologe. **34**(11): p. 1003-1012.
16. Horn, L.-C., J. Eienkel, and A.K. Höhn, *Histologie und molekulare Pathogenese des Ovarialkarzinoms - was ist wichtig für die Praxis?*, in *Ärzteblatt Sachsen*. 2013, Sächsische Landesärztekammer: Dresden. p. 187-191.
17. Meinhold-Heerlein, I., et al., *The new WHO classification of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer and its clinical implications*. Arch Gynecol Obstet, 2016.
18. Alsop, K., et al., *BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group*. J Clin Oncol, 2012. **30**(21): p. 2654-63.
19. Weiderpass, E. and J.E. Tyczynski, *Epidemiology of Patients with Ovarian Cancer with and Without a BRCA1/2 Mutation*. Mol Diagn Ther, 2015. **19**(6): p. 351-64.
20. Foulkes, W.D. and A.Y. Shuen, *In brief: BRCA1 and BRCA2*. J Pathol, 2013. **230**(4): p. 347-9.
21. Shih le, M. and R.J. Kurman, *Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis*. Am J Pathol, 2004. **164**(5): p. 1511-8.
22. Kurman, R.J. and M. Shih le, *The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory*. Am J Surg Pathol, 2010. **34**(3): p. 433-43.
23. Kurman, R.J. and M. Shih le, *Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm*. Hum Pathol, 2011. **42**(7): p. 918-31.
24. Cohen, M.M., Jr., *The AKT genes and their roles in various disorders*. Am J Med Genet A, 2013. **161a**(12): p. 2931-7.

25. Kurman, R.J. and M. Shih le, *Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications*. Int J Gynecol Pathol, 2008. **27**(2): p. 151-60.
26. Kuhn, E., R.J. Kurman, and I.M. Shih, *Ovarian Cancer Is an Imported Disease: Fact or Fiction?* Curr Obstet Gynecol Rep, 2012. **1**(1): p. 1-9.
27. Fathalla, M.F., *Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia?* Lancet, 1971. **2**(7716): p. 163.
28. Fathalla, M.F., *Incessant ovulation and ovarian cancer - a hypothesis re-visited*. Facts Views Vis Obgyn, 2013. **5**(4): p. 292-7.
29. Scully, R.E., *Pathology of ovarian cancer precursors*. J Cell Biochem Suppl, 1995. **23**: p. 208-18.
30. Dubeau, L., *The cell of origin of ovarian epithelial tumors and the ovarian surface epithelium dogma: does the emperor have no clothes?* Gynecol Oncol, 1999. **72**(3): p. 437-42.
31. Piek, J.M., et al., *Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer*. J Pathol, 2001. **195**(4): p. 451-6.
32. Medeiros, F., et al., *The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome*. Am J Surg Pathol, 2006. **30**(2): p. 230-6.
33. Hirst, J.E., et al., *High rates of occult fallopian tube cancer diagnosed at prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy*. Int J Gynecol Cancer, 2009. **19**(5): p. 826-9.
34. Chene, G., et al., *Tu-be or not tu-be: that is the question... about serous ovarian carcinogenesis*. Crit Rev Oncol Hematol, 2013. **88**(1): p. 134-43.
35. Jarboe, E., et al., *Serous carcinogenesis in the fallopian tube: a descriptive classification*. Int J Gynecol Pathol, 2008. **27**(1): p. 1-9.
36. Kuhn, E., et al., *TP53 mutations in serous tubal intraepithelial carcinoma and concurrent pelvic high-grade serous carcinoma--evidence supporting the clonal relationship of the two lesions*. J Pathol, 2012. **226**(3): p. 421-6.
37. Vang, R., et al., *Validation of an algorithm for the diagnosis of serous tubal intraepithelial carcinoma*. Int J Gynecol Pathol, 2012. **31**(3): p. 243-53.
38. Hitchcock, C.L., *Ki-67 staining as a means to simplify analysis of tumor cell proliferation*. Am J Clin Pathol, 1991. **96**(4): p. 444-6.

39. Noske, A., [*Heterogeneity of epithelial ovarian carcinomas and their clinical significance*]. Praxis (Bern 1994), 2014. **103**(3): p. 155-9.
40. Hunn, J. and G.C. Rodriguez, *Ovarian cancer: etiology, risk factors, and epidemiology*. Clin Obstet Gynecol, 2012. **55**(1): p. 3-23.
41. Pasalich, M., et al., *Reproductive factors for ovarian cancer in southern Chinese women*. J Gynecol Oncol, 2013. **24**(2): p. 135-40.
42. McGowan, L., et al., *The woman at risk for developing ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 1979. **7**(3): p. 325-44.
43. Bednar, E.M., et al., *A universal genetic testing initiative for patients with high-grade, non-mucinous epithelial ovarian cancer and the implications for cancer treatment*. Gynecol Oncol, 2017. **146**(2): p. 399-404.
44. Heidemann, L.N., et al., *The relation between endometriosis and ovarian cancer - a review*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2014. **93**(1): p. 20-31.
45. Pearce, C.L., et al., *Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies*. Lancet Oncol, 2012. **13**(4): p. 385-94.
46. Balen, A., *Polycystic ovary syndrome and cancer*. Hum Reprod Update, 2001. **7**(6): p. 522-5.
47. Barry, J.A., M.M. Azizia, and P.J. Hardiman, *Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. Hum Reprod Update, 2014. **20**(5): p. 748-58.
48. Poorolajal, J., E. Jenabi, and S.Z. Masoumi, *Body mass index effects on risk of ovarian cancer: a meta- analysis*. Asian Pac J Cancer Prev, 2014. **15**(18): p. 7665-71.
49. Leitzmann, M.F., et al., *Body mass index and risk of ovarian cancer*. Cancer, 2009. **115**(4): p. 812-22.
50. Society, T.N.A.M., *POSITION STATEMENT: The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society*. Menopause: The Journal of The North American Menopause Society, 2017. **Vol. 24, No. 7**: p. 728-753.
51. Hauptmann, S., et al., [*Histological grading of epithelial ovarian cancer : Review and recommendation.*]. Pathologe, 2014.
52. Silverberg, S.G., *Histopathologic grading of ovarian carcinoma: a review and proposal*. Int J Gynecol Pathol, 2000. **19**(1): p. 7-15.

53. Roth, L.M., *Two-tier grading system for ovarian epithelial cancer: has its time arrived?* Am J Surg Pathol, 2007. **31**(8): p. 1285-7.
54. Shimizu, Y., et al., *Toward the development of a universal grading system for ovarian epithelial carcinoma: testing of a proposed system in a series of 461 patients with uniform treatment and follow-up.* Cancer, 1998. **82**(5): p. 893-901.
55. Malpica, A., et al., *Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system.* Am J Surg Pathol, 2004. **28**(4): p. 496-504.
56. Bergman, F., *Carcinoma of the ovary. A clinicopathological study of 86 autopsied cases with special reference to mode of spread.* Acta Obstet Gynecol Scand, 1966. **45**(2): p. 211-31.
57. Dinh, T.V., et al., *Bone metastasis in epithelial ovarian carcinoma.* Int J Gynaecol Obstet, 1996. **52**(2): p. 173-6.
58. Mutch, D.G. and J. Prat, *2014 FIGO staging for ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer.* Gynecol Oncol, 2014. **133**(3): p. 401-4.
59. Wittekind, C. and H.-J. Meyer, *TNM - Klassifikation maligner Tumoren.* 7. ed. 2010: Wiley-Blackwell.
60. Hohn, A.K., et al., *[New FIGO classification of ovarian, fallopian tube and primary peritoneal cancer].* Pathologe, 2014. **35**(4): p. 322-6.
61. Vine, M.F., et al., *Types and duration of symptoms prior to diagnosis of invasive or borderline ovarian tumor.* Gynecol Oncol, 2001. **83**(3): p. 466-71.
62. Lurie, G., et al., *Prediagnostic symptoms of ovarian carcinoma: a case-control study.* Gynecol Oncol, 2009. **114**(2): p. 231-6.
63. Bankhead, C.R., et al., *Identifying symptoms of ovarian cancer: a qualitative and quantitative study.* Bjog, 2008. **115**(8): p. 1008-14.
64. Behtash, N., E. Ghayouri Azar, and F. Fakhrejahani, *Symptoms of ovarian cancer in young patients 2 years before diagnosis, a case-control study.* Eur J Cancer Care (Engl), 2008. **17**(5): p. 483-7.
65. Vine, M.F., et al., *Characterization of prediagnostic symptoms among primary epithelial ovarian cancer cases and controls.* Gynecol Oncol, 2003. **90**(1): p. 75-82.
66. van Nagell, J.R., Jr. and J.T. Hoff, *Transvaginal ultrasonography in ovarian cancer screening: current perspectives.* Int J Womens Health, 2013. **6**: p. 25-33.

67. Leitlinienprogramm Onkologie der AWMF, D.K.e.V.u.D.K.e.V. *S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren*. Leitlinienprogramm Onkologie November 2017; Available from: [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/032-035-OLl\\_Ovarialkarzinom\\_2017-11.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/032-035-OLl_Ovarialkarzinom_2017-11.pdf).
68. Bast, R.C., Jr., et al., *Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma*. J Clin Invest, 1981. **68**(5): p. 1331-7.
69. Kabawat, S.E., et al., *Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125*. Int J Gynecol Pathol, 1983. **2**(3): p. 275-85.
70. Kabawat, S.E., et al., *Immunopathologic characterization of a monoclonal antibody that recognizes common surface antigens of human ovarian tumors of serous, endometrioid, and clear cell types*. Am J Clin Pathol, 1983. **79**(1): p. 98-104.
71. Rustin, G.J., et al., *Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial*. Lancet, 2010. **376**(9747): p. 1155-63.
72. Simmons, A.R., K. Baggerly, and R.C. Bast, Jr., *The emerging role of HE4 in the evaluation of epithelial ovarian and endometrial carcinomas*. Oncology (Williston Park), 2013. **27**(6): p. 548-56.
73. Hertlein, L., et al., *Human epididymis protein 4 (HE4) in benign and malignant diseases*. Clin Chem Lab Med, 2012. **50**(12): p. 2181-8.
74. Gadducci, A., C. Sergiampietri, and R. Tana, *Alternatives to risk-reducing surgery for ovarian cancer*. Ann Oncol, 2013. **24 Suppl 8**: p. viii47-viii53.
75. Schenberg, T. and G. Mitchell, *Prophylactic bilateral salpingectomy as a prevention strategy in women at high-risk of ovarian cancer: a mini-review*. Front Oncol, 2014. **4**: p. 21.
76. Vergote, I., et al., *Neoadjuvant chemotherapy or primary surgery in stage IIIC or IV ovarian cancer*. N Engl J Med, 2010. **363**(10): p. 943-53.
77. Wright, A.A., et al., *Neoadjuvant chemotherapy for newly diagnosed, advanced ovarian cancer: Society of Gynecologic Oncology and American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline*. Gynecol Oncol, 2016. **143**(1): p. 3-15.
78. *Studie zur Untersuchung des optimalen Zeitpunktes der operativen Therapie beim primären fortgeschrittenen Ovarialkarzinom (Debulking-Operation (PDS))*

- versus Intervall Debulking-Operation (IDS) nach neoadjuvanter Chemotherapie).
- Zusätzlich Evaluation von Fragilität und Langzeit - Lebensqualität bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom. 2016; Available from: [http://ago-ovar.de/files/ago-ovar\\_op.7\\_trust\\_ovar\\_19\\_synopsis\\_d\\_v02f\\_28.04.2016.pdf](http://ago-ovar.de/files/ago-ovar_op.7_trust_ovar_19_synopsis_d_v02f_28.04.2016.pdf).
79. Gourley, C., J.L. Walker, and H.J. Mackay, *Update on Intraperitoneal Chemotherapy for the Treatment of Epithelial Ovarian Cancer*. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2016. **35**: p. 143-51.
  80. Ye, H., A.A. Karim, and X.J. Loh, *Current treatment options and drug delivery systems as potential therapeutic agents for ovarian cancer: a review*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2014. **45**: p. 609-19.
  81. Harter, P., et al., *Statement of the AGO Kommission Ovar, AGO Study Group, NOGGO, AGO Austria and AGO Switzerland Regarding the Use of Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) in Ovarian Cancer*. Geburtshilfe Frauenheilkd, 2016. **76**(2): p. 147-149.
  82. van Driel, W.J., et al., *Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy in Ovarian Cancer*. N Engl J Med, 2018. **378**(3): p. 230-240.
  83. Burger, R.A., et al., *Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer*. N Engl J Med, 2011. **365**(26): p. 2473-83.
  84. Perren, T.J., et al., *A Phase 3 Trial of Bevacizumab in Ovarian Cancer*. New England Journal of Medicine, 2011. **365**(26): p. 2484-2496.
  85. Pujade-Lauraine, E., et al., *Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer: The AURELIA open-label randomized phase III trial*. J Clin Oncol, 2014. **32**(13): p. 1302-8.
  86. Aghajanian, C., et al., *OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer*. J Clin Oncol, 2012. **30**(17): p. 2039-45.
  87. Aghajanian, C., et al., *Final overall survival and safety analysis of OCEANS, a phase 3 trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2015. **139**(1): p. 10-6.
  88. Rossi, L., et al., *Bevacizumab in ovarian cancer: A critical review of phase III studies*. Oncotarget, 2017. **8**(7): p. 12389-12405.

89. Berek, J., et al., *Oregovomab maintenance monoimmunotherapy does not improve outcomes in advanced ovarian cancer*. J Clin Oncol, 2009. **27**(3): p. 418-25.
90. du Bois, A., et al., *Incorporation of pazopanib in maintenance therapy of ovarian cancer*. J Clin Oncol, 2014. **32**(30): p. 3374-82.
91. du Bois, A., et al., *Standard first-line chemotherapy with or without nintedanib for advanced ovarian cancer (AGO-OVAR 12): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2016. **17**(1): p. 78-89.
92. Ärzteblatt. *PARP-Inhibitor Rucaparib bei Ovarialkarzinom effektiv*. 2016 [cited 2018; Available from: <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/72152/PARP-Inhibitor-Rucaparib-bei-Ovarialkarzinom-effektiv>].
93. Ledermann, J., et al., *Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer*. N Engl J Med, 2012. **366**(15): p. 1382-92.
94. Ledermann, J., et al., *Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial*. Lancet Oncol, 2014. **15**(8): p. 852-61.
95. Meehan, R.S. and A.P. Chen, *New treatment option for ovarian cancer: PARP inhibitors*. Gynecol Oncol Res Pract, 2016. **3**: p. 3.
96. Pujade-Lauraine, E., et al., *Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2017. **18**(9): p. 1274-1284.
97. Sisay, M. and D. Edessa, *PARP inhibitors as potential therapeutic agents for various cancers: focus on niraparib and its first global approval for maintenance therapy of gynecologic cancers*. Gynecol Oncol Res Pract, 2017. **4**: p. 18.
98. Mirza, M.R., et al., *Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer*. N Engl J Med, 2016. **375**(22): p. 2154-2164.
99. Zaharoff, B. *A Study of Niraparib Maintenance Treatment in Patients With Advanced Ovarian Cancer Following Response on Front-Line Platinum-Based Chemotherapy*. ClinicalTrials.gov 2016 06.12.2017; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02655016>.
100. Coleman, R.L., et al., *Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised,*



- double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial.* Lancet, 2017. **390**(10106): p. 1949-1961.
101. Hatch, K.D., et al., *Responsiveness of patients with advanced ovarian carcinoma to tamoxifen. A Gynecologic Oncology Group study of second-line therapy in 105 patients.* Cancer, 1991. **68**(2): p. 269-71.
  102. Lindemann, K., et al., *Chemotherapy vs tamoxifen in platinum-resistant ovarian cancer: a phase III, randomised, multicentre trial (Ovaesist).* Br J Cancer, 2017. **116**(4): p. 455-463.
  103. Smyth, J.F., et al., *Antiestrogen therapy is active in selected ovarian cancer cases: the use of letrozole in estrogen receptor-positive patients.* Clin Cancer Res, 2007. **13**(12): p. 3617-22.
  104. Serkies, K., M. Sinacki, and J. Jassem, *The role of hormonal factors and endocrine therapy in ovarian cancer.* Contemp Oncol (Pozn), 2013. **17**(1): p. 14-9.
  105. Gershenson, D.M., et al., *Hormonal Maintenance Therapy for Women With Low-Grade Serous Cancer of the Ovary or Peritoneum.* J Clin Oncol, 2017. **35**(10): p. 1103-1111.
  106. Paleari, L., et al., *Clinical benefit and risk of death with endocrine therapy in ovarian cancer: A comprehensive review and meta-analysis.* Gynecol Oncol, 2017. **146**(3): p. 504-513.
  107. Modugno, F., et al., *Hormone response in ovarian cancer: time to reconsider as a clinical target?* Endocr Relat Cancer, 2012. **19**(6): p. R255-79.
  108. Bookman, M.A., et al., *Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group.* J Clin Oncol, 2003. **21**(2): p. 283-90.
  109. Kaye, S.B., et al., *A randomized phase II study evaluating the combination of carboplatin-based chemotherapy with pertuzumab versus carboplatin-based therapy alone in patients with relapsed, platinum-sensitive ovarian cancer.* Ann Oncol, 2013. **24**(1): p. 145-52.
  110. Makhija, S., et al., *Clinical activity of gemcitabine plus pertuzumab in platinum-resistant ovarian cancer, fallopian tube cancer, or primary peritoneal cancer.* J Clin Oncol, 2010. **28**(7): p. 1215-23.
  111. Gonzalez-Martin, A., et al., *Pertuzumab Plus Chemotherapy for Platinum-Resistant Ovarian Cancer: Safety Run-in Results of the PENELOPE Trial.* Int J Gynecol Cancer, 2016. **26**(5): p. 898-905.

112. Kurzeder, C., et al., *Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Phase III Trial Evaluating Pertuzumab Combined With Chemotherapy for Low Tumor Human Epidermal Growth Factor Receptor 3 mRNA-Expressing Platinum-Resistant Ovarian Cancer (PENELOPE)*. J Clin Oncol, 2016. **34**(21): p. 2516-25.
113. Eeles, R.A., et al., *Adjuvant Hormone Therapy May Improve Survival in Epithelial Ovarian Cancer: Results of the AHT Randomized Trial*. J Clin Oncol, 2015. **33**(35): p. 4138-44.
114. du Bois, A., et al., *Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO)*. Cancer, 2009. **115**(6): p. 1234-44.
115. Cauley, J.A., *Estrogen and bone health in men and women*. Steroids, 2014.
116. Thornton, M.J., *Estrogens and aging skin*. Dermatoendocrinol, 2013. **5**(2): p. 264-70.
117. Meyer, M.R. and M. Barton, *ERalpha, ERbeta, and gpER: novel aspects of oestrogen receptor signalling in atherosclerosis*. Cardiovasc Res, 2009. **83**(4): p. 605-10.
118. Arevalo, M.A., I. Azcoitia, and L.M. Garcia-Segura, *The neuroprotective actions of oestradiol and oestrogen receptors*. Nat Rev Neurosci, 2015. **16**(1): p. 17-29.
119. Vrtacnik, P., et al., *The many faces of estrogen signaling*. Biochem Med (Zagreb), 2014. **24**(3): p. 329-42.
120. O'Donnell, A.J., et al., *Estrogen receptor-alpha mediates gene expression changes and growth response in ovarian cancer cells exposed to estrogen*. Endocr Relat Cancer, 2005. **12**(4): p. 851-66.
121. Burges, A., et al., *Prognostic significance of estrogen receptor alpha and beta expression in human serous carcinomas of the ovary*. Arch Gynecol Obstet, 2010. **281**(3): p. 511-7.
122. Sieh, W., et al., *Hormone-receptor expression and ovarian cancer survival: an Ovarian Tumor Tissue Analysis consortium study*. Lancet Oncol, 2013. **14**(9): p. 853-62.
123. Bossard, C., et al., *Potential role of estrogen receptor beta as a tumor suppressor of epithelial ovarian cancer*. PLoS One, 2012. **7**(9): p. e44787.

124. Lazennec, G., *Estrogen receptor beta, a possible tumor suppressor involved in ovarian carcinogenesis*. Cancer Lett, 2006. **231**(2): p. 151-7.
125. Pujol, P., et al., *Differential expression of estrogen receptor-alpha and -beta messenger RNAs as a potential marker of ovarian carcinogenesis*. Cancer Res, 1998. **58**(23): p. 5367-73.
126. Chan, K.K., et al., *Targeting estrogen receptor subtypes (ERalpha and ERbeta) with selective ER modulators in ovarian cancer*. J Endocrinol, 2014. **221**(2): p. 325-36.
127. Carmeci, C., et al., *Identification of a gene (GPR30) with homology to the G-protein-coupled receptor superfamily associated with estrogen receptor expression in breast cancer*. Genomics, 1997. **45**(3): p. 607-17.
128. Rae, J.M. and M.D. Johnson, *What does an orphan G-protein-coupled receptor have to do with estrogen?* Breast Cancer Res, 2005. **7**(6): p. 243-4.
129. Revankar, C.M., et al., *A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling*. Science, 2005. **307**(5715): p. 1625-30.
130. Cheng, S.B., et al., *Retrograde transport of the transmembrane estrogen receptor, G-protein-coupled-receptor-30 (GPR30/GPER) from the plasma membrane towards the nucleus*. Steroids, 2011. **76**(9): p. 892-6.
131. Filardo, E.J., et al., *Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF*. Mol Endocrinol, 2000. **14**(10): p. 1649-60.
132. Deschenes-Simard, X., et al., *ERKs in cancer: friends or foes?* Cancer Res, 2014. **74**(2): p. 412-9.
133. Filardo, E.J., et al., *Estrogen action via the G protein-coupled receptor, GPR30: stimulation of adenylyl cyclase and cAMP-mediated attenuation of the epidermal growth factor receptor-to-MAPK signaling axis*. Mol Endocrinol, 2002. **16**(1): p. 70-84.
134. Prossnitz, E.R. and M. Barton, *Estrogen biology: new insights into GPER function and clinical opportunities*. Mol Cell Endocrinol, 2014. **389**(1-2): p. 71-83.
135. Smith, H.O., et al., *GPR30 predicts poor survival for ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2009. **114**(3): p. 465-71.

136. Fujiwara, S., et al., *GPR30 regulates the EGFR-Akt cascade and predicts lower survival in patients with ovarian cancer*. J Ovarian Res, 2012. **5**(1): p. 35.
137. Yan, Y., et al., *The novel estrogen receptor GPER regulates the migration and invasion of ovarian cancer cells*. Mol Cell Biochem, 2013. **378**(1-2): p. 1-7.
138. Kolkova, Z., et al., *The G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER/GPR30) does not predict survival in patients with ovarian cancer*. J Ovarian Res, 2012. **5**: p. 9.
139. Ignatov, T., et al., *GPER-1 acts as a tumor suppressor in ovarian cancer*. J Ovarian Res, 2013. **6**(1): p. 51.
140. Diep, C.H., et al., *Progesterone action in breast, uterine, and ovarian cancers*. J Mol Endocrinol, 2015. **54**(2): p. R31-r53.
141. Conneely, O.M., et al., *The A and B forms of the chicken progesterone receptor arise by alternate initiation of translation of a unique mRNA*. Biochem Biophys Res Commun, 1987. **149**(2): p. 493-501.
142. Conneely, O.M., et al., *Reproductive functions of the progesterone receptor isoforms: lessons from knock-out mice*. Mol Cell Endocrinol, 2001. **179**(1-2): p. 97-103.
143. Schultz, J.R., L.N. Petz, and A.M. Nardulli, *Estrogen receptor alpha and Sp1 regulate progesterone receptor gene expression*. Mol Cell Endocrinol, 2003. **201**(1-2): p. 165-75.
144. Thakkar, J.P. and D.G. Mehta, *A review of an unfavorable subset of breast cancer: estrogen receptor positive progesterone receptor negative*. Oncologist, 2011. **16**(3): p. 276-85.
145. Lenhard, M., et al., *Steroid hormone receptor expression in ovarian cancer: progesterone receptor B as prognostic marker for patient survival*. BMC Cancer, 2012. **12**: p. 553.
146. Rodriguez, G.C., et al., *Effect of progestin on the ovarian epithelium of macaques: cancer prevention through apoptosis?* J Soc Gynecol Investig, 1998. **5**(5): p. 271-6.
147. Chakravarti, S., et al., *Hormonal profiles after the menopause*. Br Med J, 1976. **2**(6039): p. 784-7.
148. Mertens-Walker, I., R.C. Baxter, and D.J. Marsh, *Gonadotropin signalling in epithelial ovarian cancer*. Cancer Lett, 2012. **324**(2): p. 152-9.

149. Halperin, R., et al., *Peritoneal fluid gonadotropins and ovarian hormones in patients with ovarian cancer*. Int J Gynecol Cancer, 1999. **9**(6): p. 502-507.
150. Zheng, W., et al., *Ovarian epithelial tumor growth promotion by follicle-stimulating hormone and inhibition of the effect by luteinizing hormone*. Gynecol Oncol, 2000. **76**(1): p. 80-8.
151. Mertens-Walker, I., et al., *Gonadotropin-induced ovarian cancer cell migration and proliferation require extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation regulated by calcium and protein kinase C{delta}*. Endocr Relat Cancer, 2010. **17**(2): p. 335-49.
152. Ohtani, K., et al., *Follicle-stimulating hormone promotes the growth of human epithelial ovarian cancer cells through the protein kinase C-mediated system*. Cancer Lett, 2001. **166**(2): p. 207-13.
153. Parrott, J.A., et al., *Expression and actions of both the follicle stimulating hormone receptor and the luteinizing hormone receptor in normal ovarian surface epithelium and ovarian cancer*. Mol Cell Endocrinol, 2001. **172**(1-2): p. 213-22.
154. Zhang, Z., et al., *Overexpression of follicle-stimulating hormone receptor facilitates the development of ovarian epithelial cancer*. Cancer Lett, 2009. **278**(1): p. 56-64.
155. Choi, J.H., et al., *Gonadotropins activate proteolysis and increase invasion through protein kinase A and phosphatidylinositol 3-kinase pathways in human epithelial ovarian cancer cells*. Cancer Res, 2006. **66**(7): p. 3912-20.
156. Choi, J.H., et al., *Overexpression of follicle-stimulating hormone receptor activates oncogenic pathways in preneoplastic ovarian surface epithelial cells*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(11): p. 5508-16.
157. Lenhard, M., et al., *Opposed roles of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptors in ovarian cancer survival*. Histopathology, 2011. **58**(6): p. 990-4.
158. Bertelsen, V. and E. Stang, *The Mysterious Ways of ErbB2/HER2 Trafficking*. Membranes (Basel), 2014. **4**(3): p. 424-46.
159. Iqbal, N. and N. Iqbal, *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications*. Mol Biol Int, 2014. **2014**: p. 852748.
160. Berchuck, A., et al., *Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer*. Cancer Res, 1990. **50**(13): p. 4087-91.

161. Mayr, D., et al., *HER-2/neu gene amplification in ovarian tumours: a comprehensive immunohistochemical and FISH analysis on tissue microarrays*. Histopathology, 2006. **48**(2): p. 149-56.
162. Teplinsky, E. and F. Muggia, *Targeting HER2 in ovarian and uterine cancers: challenges and future directions*. Gynecol Oncol, 2014. **135**(2): p. 364-70.
163. Engelstaedter, V., et al., *Lack of prognostic relevance of Her-2/neu, topoisomerase IIalpha and EGFR in advanced ovarian carcinoma*. Exp Ther Med, 2012. **3**(5): p. 828-834.
164. Sheng, Q. and J. Liu, *The therapeutic potential of targeting the EGFR family in epithelial ovarian cancer*. Br J Cancer, 2011. **104**(8): p. 1241-5.
165. Lanitis, E., et al., *Primary human ovarian epithelial cancer cells broadly express HER2 at immunologically-detectable levels*. PLoS One, 2012. **7**(11): p. e49829.
166. Rabinovich, G.A., *Galectins: an evolutionarily conserved family of animal lectins with multifunctional properties; a trip from the gene to clinical therapy*. Cell Death Differ, 1999. **6**(8): p. 711-21.
167. Barondes, S.H., et al., *Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins*. J Biol Chem, 1994. **269**(33): p. 20807-10.
168. Griffioen, A.W. and V.L. Thijssen, *Galectins in tumor angiogenesis*. Ann Transl Med, 2014. **2**(9): p. 90.
169. Madsen, P., et al., *Cloning, expression, and chromosome mapping of human galectin-7*. J Biol Chem, 1995. **270**(11): p. 5823-9.
170. Timmons, P.M., et al., *Expression of galectin-7 during epithelial development coincides with the onset of stratification*. Int J Dev Biol, 1999. **43**(3): p. 229-35.
171. Cao, Z., et al., *Galectins-3 and -7, but not galectin-1, play a role in re-epithelialization of wounds*. J Biol Chem, 2002. **277**(44): p. 42299-305.
172. Evans, J., et al., *Galectin-7 is important for normal uterine repair following menstruation*. Mol Hum Reprod, 2014. **20**(8): p. 787-98.
173. Polyak, K., et al., *A model for p53-induced apoptosis*. Nature, 1997. **389**(6648): p. 300-5.
174. Kuwabara, I., et al., *Galectin-7 (PIG1) exhibits pro-apoptotic function through JNK activation and mitochondrial cytochrome c release*. J Biol Chem, 2002. **277**(5): p. 3487-97.

175. Demers, M., et al., *Increased galectin-7 gene expression in lymphoma cells is under the control of DNA methylation*. Biochem Biophys Res Commun, 2009. **387**(3): p. 425-9.
176. Ueda, S., I. Kuwabara, and F.T. Liu, *Suppression of tumor growth by galectin-7 gene transfer*. Cancer Res, 2004. **64**(16): p. 5672-6.
177. Saussez, S. and R. Kiss, *Galectin-7*. Cell Mol Life Sci, 2006. **63**(6): p. 686-97.
178. Campion, C.G., et al., *Expression of galectin-7 is induced in breast cancer cells by mutant p53*. PLoS One, 2013. **8**(8): p. e72468.
179. Labrie, M., et al., *Expression and functions of galectin-7 in ovarian cancer*. Oncotarget, 2014. **5**(17): p. 7705-21.
180. Demers, M., et al., *Overexpression of galectin-7, a myoepithelial cell marker, enhances spontaneous metastasis of breast cancer cells*. Am J Pathol, 2010. **176**(6): p. 3023-31.
181. Cedeno-Laurent, F. and C.J. Dimitroff, *Galectins and their ligands: negative regulators of anti-tumor immunity*. Glycoconj J, 2012. **29**(8-9): p. 619-25.
182. Camp, R.L., V. Neumeister, and D.L. Rimm, *A decade of tissue microarrays: progress in the discovery and validation of cancer biomarkers*. J Clin Oncol, 2008. **26**(34): p. 5630-7.
183. Donati, V., et al., *Applications of tissue microarray technology in immunohistochemistry: a study on c-kit expression in small cell lung cancer*. Hum Pathol, 2004. **35**(11): p. 1347-52.
184. Harvey, J.M., et al., *Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer*. J Clin Oncol, 1999. **17**(5): p. 1474-81.
185. Remmele, W. and H.E. Stegner, *[Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]*. Pathologe, 1987. **8**(3): p. 138-40.
186. Heublein, S., et al., *Her-2/neu expression is a negative prognosticator in ovarian cancer cases that do not express the follicle stimulating hormone receptor (FSHR)*. J Ovarian Res, 2013. **6**(1): p. 6.
187. Halon, A., et al., *Estrogen receptor alpha expression in ovarian cancer predicts longer overall survival*. Pathol Oncol Res, 2011. **17**(3): p. 511-8.

188. Prat, J., *Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features*. Virchows Arch, 2012. **460**(3): p. 237-49.
189. Lax, S. and A. Staebler, *[Mucinous ovarian neoplasms. Prognostically mostly excellent, infrequently a wolf in sheep's clothing]*. Pathologe, 2014. **35**(4): p. 327-35.
190. Ledermann, J.A., et al., *Gynecologic Cancer InterGroup (GCIG) consensus review for mucinous ovarian carcinoma*. Int J Gynecol Cancer, 2014. **24**(9 Suppl 3): p. S14-9.
191. De Stefano, I., et al., *Cytoplasmic expression of estrogen receptor beta (ERbeta) predicts poor clinical outcome in advanced serous ovarian cancer*. Gynecol Oncol, 2011. **122**(3): p. 573-9.
192. Lindgren, P.R., et al., *Estrogen and progesterone receptors in ovarian epithelial tumors*. Mol Cell Endocrinol, 2004. **221**(1-2): p. 97-104.
193. Alonso, L., et al., *Gonadotropin and steroid receptors as prognostic factors in advanced ovarian cancer: a retrospective study*. Clin Transl Oncol, 2009. **11**(11): p. 748-52.
194. Voutsadakis, I.A., *Hormone Receptors in Serous Ovarian Carcinoma: Prognosis, Pathogenesis, and Treatment Considerations*. Clin Med Insights Oncol, 2016. **10**: p. 17-25.
195. Koskela-Niska, V., et al., *Effect of various forms of postmenopausal hormone therapy on the risk of ovarian cancer--a population-based case control study from Finland*. Int J Cancer, 2013. **133**(7): p. 1680-8.
196. Chan, K.K., et al., *Estrogen receptor subtypes in ovarian cancer: a clinical correlation*. Obstet Gynecol, 2008. **111**(1): p. 144-51.
197. Rutherford, T., et al., *Absence of estrogen receptor-beta expression in metastatic ovarian cancer*. Obstet Gynecol, 2000. **96**(3): p. 417-21.
198. Hall, J.M. and D.P. McDonnell, *The estrogen receptor beta-isoform (ERbeta) of the human estrogen receptor modulates ERalpha transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens*. Endocrinology, 1999. **140**(12): p. 5566-78.
199. Zheng, H., et al., *Hormonal therapy in ovarian cancer*. Int J Gynecol Cancer, 2007. **17**(2): p. 325-38.



200. Bu, S.Z., et al., *Progesterone induces apoptosis and up-regulation of p53 expression in human ovarian carcinoma cell lines*. Cancer, 1997. **79**(10): p. 1944-50.
201. Takahashi, A., et al., *Induction of senescence by progesterone receptor-B activation in response to cAMP in ovarian cancer cells*. Gynecol Oncol, 2009. **113**(2): p. 270-6.
202. Wen, L., et al., *Effect of tamoxifen, methoxyprogesterone acetate and combined treatment on cellular proliferation and apoptosis in SKOV3/DDP cells via the regulation of vascular endothelial growth factor*. Arch Gynecol Obstet, 2013. **287**(5): p. 997-1004.
203. Frey, N.V. and D.L. Porter, *CAR T-cells merge into the fast lane of cancer care*. Am J Hematol, 2016. **91**(1): p. 146-50.
204. Perales-Puchalt, A., et al., *FOLLICLE-STIMULATING HORMONE RECEPTOR IS EXPRESSED BY MOST OVARIAN CANCER SUBTYPES AND IS A SAFE AND EFFECTIVE IMMUNOTHERAPEUTIC TARGET*. Clin Cancer Res, 2016.
205. Kim, H.J., et al., *Clinical significance of galectin-7 in epithelial ovarian cancer*. Anticancer Res, 2013. **33**(4): p. 1555-61.
206. St-Pierre, Y., et al., *Potential directions for drug development against galectin-7 in cancer*. Expert Opin Drug Discov, 2009. **4**(6): p. 611-20.
207. Heublein, S., et al., *The G-protein coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) is a gonadotropin receptor dependent positive prognosticator in ovarian carcinoma patients*. PLoS One, 2013. **8**(8): p. e71791.
208. Pavlik, R., et al., *Induction of G protein-coupled estrogen receptor (GPER) and nuclear steroid hormone receptors by gonadotropins in human granulosa cells*. Histochem Cell Biol, 2011. **136**(3): p. 289-99.
209. Lee, H.C., et al., *Expression of Immunohistochemical Markers before and after Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Carcinoma, and Their Use as Predictors of Response*. J Breast Cancer, 2013. **16**(4): p. 395-403.
210. van de Ven, S., et al., *Discordances in ER, PR and HER2 receptors after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer*. Cancer Treat Rev, 2011. **37**(6): p. 422-30.

## **8 Danksagung**

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. T. Kirchner für die Möglichkeit, diese Arbeit am Institut für Pathologie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchführen zu können.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. D. Mayr. Vor allen Dingen Ihre kontinuierliche, geduldige und im richtigen Moment humorvolle Betreuung hat mir den notwendigen Antrieb verliehen, diese Arbeit fertigzustellen.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Prof. Dr. U. Jeschke und seinem Team der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU München. Sie haben mich während meiner Untersuchungen in Ihrem Labor warmherzig aufgenommen und mich geduldig in die Welt der Immunhistochemie eingeführt.

Große Unterstützung habe ich auch von Frau Dipl.-Geogr. M. Rottmann vom Tumorregister München der LMU München bekommen. Sie hatten auch für die komplizierteste statistische Fragestellung immer eine faszinierend einfache Lösung. Vielen Dank!

Zuletzt danke ich meinen Eltern und meiner lieben Schwester Stephanie. Ich bin sehr glücklich, dass uns trotz unserer Eigenheiten ein derart festes Band zusammenhält. Danke, dass ich mich in jeder Lebenssituation auf euren Rückhalt verlassen kann.

## 9 Eidesstattliche Versicherung

Breidenbach, Maike

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Expression von Steroidrezeptoren und anderen Hormonrezeptoren in  
Ovarialkarzinomen –  
Umfassende Korrelationsanalyse zu klinischen Parametern**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 07.06.2018

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin